

文章编号: 1000-5862(2014)03-0314-05

2-(4-氯苯基)-4-(4-甲氧基苯基)喹唑啉 抑制微囊藻生长的研究及应用前景探究

赵 洋¹, 叶兴林^{1,2}, 杨 琴¹, 刘卫生¹, 彭以元^{1*}

(1. 江西师范大学生命科学学院/功能有机小分子教育部重点实验室 江西 南昌 330022;

2. 九江学院化学与环境工程学院 江西 九江 332005)

摘要: 近年来,随着水体富营养化程度加剧,蓝藻水华现象已成为世界性的灾难问题,有效地控制蓝藻水华对于保证水体水质安全和水体生态修复至关重要。喹唑啉类化合物,作为一类生态安全性好且易于降解的生物碱类化合物,具有广谱的抗菌生物活性和药用价值,最近研究发现这类化合物具有潜在的抑制微囊藻生长和控制蓝藻水华的能力。通过2-(4-氯苯基)-4-(4-甲氧基苯基)喹唑啉(CMQ)对群体状的铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)的生长影响实验,发现CMQ在大于 $5.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的浓度条件下,对微囊藻有强烈抑制效果。4 d内CMQ对微囊藻细胞的50%生长抑制浓度(EC_{50})为 $1.93 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。通过对微囊藻的群体形态和大小的变化观察,结果表明CMQ能够降解*M. aeruginosa*群体并引起群体颗粒变小,导致明显的群体沉降。

关键词: CMQ; 细胞; 群体; 微囊藻; 蓝藻水华

中图分类号: Q 945

文献标志码: A

0 引言

蓝藻是一类结构简单、光合自养的原核微生物。有些蓝藻种类易在温暖且富营养化的淡水水体中大量繁殖形成水华。蓝藻水华的大面积爆发将引起水体透明度降低、溶氧减少、水生生物多样性降低、水质下降等水环境问题^[1]。许多水华蓝藻会形成蓝藻毒素并释放到水体中,这类毒素通过食物链的累积效应将对水产动物乃至人类生命安全产生重大威胁^[2]。随着环境污染和水体富营养化程度的加剧,蓝藻水华的爆发危害已成为世界性环境灾难。近年来,我国水体富营养化日趋严重,大量的水体中常有蓝藻水华爆发,如巢湖、太湖和滇池,每年夏秋季节均有蓝藻水华暴发^[3-6]。因此,控制蓝藻生长,特别是产毒蓝藻的生长,是我国亟待解决的重大科学问题。

蓝藻水华的常见种属主要有微囊藻(*Microcystis*)、鱼腥藻(*Anabaena*)、束丝藻(*Aphanizomenon*)、浮丝藻(*Planktothrix*)等,其中尤以微囊藻水华最为常见,最具危害性。相对于其他藻类,微囊藻的竞争

优势主要源于其自身的群体效应和细胞内的伪空胞结构。群体效应赋予了微囊藻诸多竞争优势:更强的光吸收和利用能力,获得更多的营养盐、无机碳和金属离子,更强的抵御环境胁迫的能力,通过形成群体还可以大大地降低被外来水生动物牧食的风险^[7-10]。伪空胞则能够为细胞提供浮力^[11],通过伪空胞的破裂与形成,微囊藻细胞可以自动调节自身在垂直水层中的分布,从而显示出趋利避害能力,处于竞争优势的顶端,更易于生长繁殖形成水华。微囊藻能产生一种易溶于水、难于降解且易在生物体内累积的微囊藻毒素,这种毒素能诱导肝癌、致死性肝功能障碍,还可诱发急性肠胃炎等^[12]。鉴于微囊藻水华的重大危害,抑制微囊藻的生长在缓解和治理有害蓝藻水华的环境问题中就显得尤为重要。

从20世纪80年代以来,国内外学者在微囊藻水华控制和去除等方面进行了大量的室内和野外研究,探索了多种治理措施。归纳起来,蓝藻水华的去除方法主要分为物理化学方法和生物学方法。化学除藻方法中尤以生物源物质抑藻研究最为突出^[13-15]。但在实际应用中,因受到适用范围、应用条件原材料缺乏等因素的限制,还没有行之有效的抑

收稿日期: 2013-03-20

基金项目: 国家自然科学基金(20962010 21162012 21362014)资助项目。

通信作者: 彭以元(1964-),男,江西吉水人,教授,博士,主要从事化学生物学、绿色化学、生态学研究。

藻方案. 寻求和探索更多生源性抑藻物质来控制微囊藻水华仍将是今后的重要研究方向. 本研究利用江西师范大学功能有机小分子教育部重点实验室在功能有机小分子化学物质方面的优势, 将生态安全性好、易于降解的类生源喹唑啉类化合物应用于抑藻研究^[16]. 前期研究表明, 喹唑啉类化合物, 特别是2-(4-氯苯基)-4-(4-甲氧基苯基)喹唑啉(CMQ)能够有效抑制微囊藻单细胞的生长. 在野外环境中, 微囊藻均以群体形式存在, 此前有关于抑藻实验的大部分研究均以单细胞微囊藻种为实验对象. 本文主要研究CMQ对微囊藻群体细胞的抑制效果, 进一步阐明CMQ化合物的抑藻活性和实际应用价值.

1 材料与方法

1.1 化学试剂与藻种培养

CMQ化合物由江西师范大学功能有机小分子教育部重点实验室合成提供, 通过NMR和HMs等手段鉴定其化学结构, 并保证其化学纯度在98%以上. 试验选用的铜绿微囊藻(*M. aeruginosa*)分离于鄱阳湖的局部蓝藻水华地区——都昌县城以南约20 km²饶河水域, 初步研究发现藻株具有较强的生长繁殖能力和产微囊藻毒素能力. 藻株用MA完全培养基培养, 培养条件为光强30 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, 温度(25 \pm 1) $^{\circ}\text{C}$, 光周期12 h: 12 h (L: D).

1.2 CMQ对*M. aeruginosa*群体细胞生长的影响

将150 mL *M. aeruginosa* 群体细胞培养液接种至2个含1 000 mL MA培养基的锥形瓶中培育至对数生长期, 混匀后按每瓶100 mL溶液量分装入18个250 mL的锥形瓶中待实验处理. CMQ按照1.25、2.50、5.00、10.00 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的质量浓度溶解于100 μL 的DMSO中, 用时新鲜配制, 然后分别加入到100 mL的藻液中检测CMQ对藻细胞生长的影响, 对照组分别加入100 μL 的DMSO和灭菌水, 各处理设3个重复. 各处理每隔24 h取5.0 mL样, 超声5 min解离群体细胞后, 采用UV-2550紫外分光光度计(Hitachi, Kyoto Japan)检测680 nm处吸光度的变化, 测定细胞生物量, 绘制生长曲线.

1.3 CMQ对*M. aeruginosa*群体形态及其大小的影响

将150 mL *M. aeruginosa* 群体细胞接种至2个含1 000 mL培养基的锥形瓶中培育至对数生长期, 混匀后按每瓶100 mL溶液量分装入12个250 mL的锥形瓶中待实验处理. 将100 μL CMQ质量浓度

分别为5.0、10.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的DMSO溶液分别加入至250 mL锥形瓶中, 观测CMQ对铜绿微囊藻群体细胞的影响. 对照组分别加入100 μL DMSO和灭菌水, 实验设3个平行. 各处理利用尼康数码相机记录第4天和第6天*M. aeruginosa*群体细胞的表现形态变化.

同时, 各处理在第4天和第6天取5.0 mL样, 显微镜观察*M. aeruginosa*群体细胞形态变化, 并利用装有数码相机的显微镜拍照测定其大小(Nikon 80i, Japan). 在Nikon 80i自带的测量分析软件中量取每个*M. aeruginosa*细胞群体的面积(s)、长(l)、宽(d)等指标, 通过公式近似换算成球体直径(D). 随机取50个*M. aeruginosa*群体样本求平均值, 并按照下 $D = (6V/\pi)^{1/3}$ 计算单个样本群体颗粒大小, 其中 V 为体积^[17].

1.4 统计分析

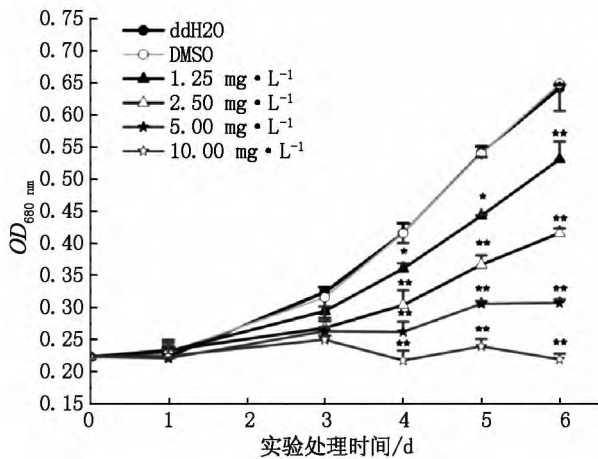
*M. aeruginosa*单细胞的生长曲线利用origin Version 8.0(OriginLab Inc, USA)根据 $OD_{680 \text{ nm}}$ 吸光度变化绘制而成. CMQ对*M. aeruginosa*群体细胞第4天的半致死浓度 EC_{50} 通过对抑制百分率的多元对数回归分析获得. 实验均设置3个平行且重复1次, 所有实验结果均用spss 17.0(SPSS Inc, USA)软件进行标准误差和单因素分析, LSD post-hoc检验用于分析对照组和处理样品之间的统计学意义上的显著性差异, 显著性水平取 $P < 0.05$, 极显著水平取 $P < 0.01$.

2 结果与分析

2.1 CMQ对*M. aeruginosa*群体的生长抑制作用

在不同的CMQ浓度处理下, *M. aeruginosa*群体细胞的生长曲线如图1所示. CMQ对*M. aeruginosa*群体的生长抑制表现出一定的“浓度效应”, 当CMQ的质量浓度大于5.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 群体细胞的生长几乎受到完全抑制, 表现为生长曲线持续保持平缓状态; 而当CMQ质量浓度低于5.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 群体细胞的生长虽受到抑制, 但生长曲线仍有缓慢的增长趋势. 同时, 图1还显示, 在前3天CMQ对微囊藻群体细胞的生长并未表现出明显的抑制, 但从第4天起, 在CMQ胁迫下, 群体细胞的生长率受到显著抑制, 且抑制率随时间的延续和CMQ质量浓度的增加不断加强. 同时, 通过光学显微镜观察到在高浓度CMQ($>5.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)下, 发现群体细胞出现细胞膨胀变大、细胞异常分裂和细胞破碎等现象, 从第

4 天起,这种现象尤为明显.将 CMQ 的浓度与第 4 天相对应的生长抑制率进行元对数回归分析,得到 CMQ 对微囊藻细胞的 50% 生长抑制浓度(EC_{50})为 $1.93 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$.这些结果都表明,CMQ 具有良好的抑藻效果,能够有效地控制群体微囊藻细胞的生长繁殖.



* 代表 $P < 0.05$, ** 代表 $P < 0.01$.

图1 CMQ 对 *M. aeruginosa* 群体细胞生长率的影响

2.2 CMQ 对 *M. aeruginosa* 群体细胞表观形态的影响

为了进一步阐明 CMQ 对群体细胞的抑制效果,选用具有明显抑藻效果的 CMQ 浓度 (5.0 和 $10.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 进一步研究了 CMQ 对 *M. aeruginosa* 群体细胞表观形态的影响,结果见图 2. 图 2 显示, *M. aeruginosa* 群体细胞在 CMQ 的胁迫下,表现出明显的沉降现象,沉降程度随时间和 CMQ 浓度的增加而加剧.微囊藻细胞依靠伪空胞提供的浮力,并通过其破裂与合成,调节自身在垂直水层中的分布,以获得充足的光照和营养进行大量繁殖.在 CMQ 胁迫下,微囊藻细胞内的浮力平衡被打破,伪空胞提供的浮力不能支撑微囊藻悬浮从而出现群体细胞沉降现象.微囊藻失去了调节自身浮力的能力,将不能根据外界的光照和营养条件改变其在水层中的分布,不能获得足够的光照和养分进而生长繁殖受到明显抑制^[18].同时,在野外环境中,沉底的微囊藻细胞将由

于光照、底泥、细菌等因素的作用,更易死亡降解.

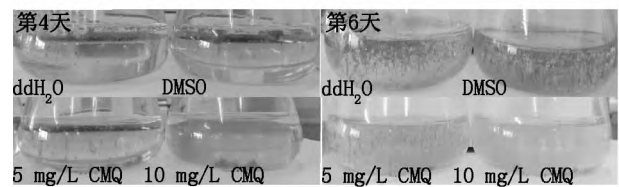


图2 CMQ 对 *M. aeruginosa* 群体细胞表观形态的影响

2.3 CMQ 对 *M. aeruginosa* 群体细胞颗粒大小的影响

为深入了解 CMQ 对 *M. aeruginosa* 群体细胞的抑制作用,分别测定了 CMQ 胁迫下群体面积和颗粒大小的变化情况,结果如图 3 和表 1 所示.根据 Nikon 80i 荧光显微镜自带软件生成的面积分布图(图 3),对照组 ddH₂O 和 DMSO 的 50 个样本统计结果基本服从正态分布,对照组中微囊藻细胞正常生长;然而,在 CMQ 实验组,微囊藻细胞由于受到 CMQ 胁迫的影响,群体面积大小统计结果不再服从正态分布.表 1 揭示在第 4 天,对照组微囊藻群体面积大小集中于 $6\,000 \sim 12\,000 \text{ mm}^2$ 的范围内;然而,在质量浓度为 5.0 和 $10.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 CMQ 处理下,群体面积表现出增大趋势,分别为 $8\,000 \sim 16\,000 \text{ mm}^2$ 和 $7\,000 \sim 13\,000 \text{ mm}^2$.增大原因可能是 CMQ 胁迫引起细胞膨胀变大,进而导致团体面积呈现轻微增大的趋势.随着实验时间延长到第 6 天,对照组群体细胞正常生长,面积增大到 $8\,000 \sim 14\,000 \text{ mm}^2$,平均增加了 $2\,000 \text{ mm}^2$;而在质量浓度为 5.0 和 $10.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 CMQ 处理下,群体细胞因受到 CMQ 显著抑制出现死亡,团体面积减小,分别减少到 $6\,000 \sim 12\,000 \text{ mm}^2$ 和 $3\,000 \sim 7\,000 \text{ mm}^2$,平均减少了 $4\,000 \text{ mm}^2$.同时,相对于对照组,在第 4 天,微囊藻细胞群体颗粒并未受到 CMQ 的明显抑制,但到第 6 天,群体颗粒因受到 CMQ 的胁迫作用而明显减小,减少程度随 CMQ 浓度的增加而增强.这个实验结果进一步证明高浓度的 CMQ ($>5.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 能够明显抑制群体微囊藻生长繁殖,导致细胞群体颗粒变小,甚至引起群体细胞的衰亡.

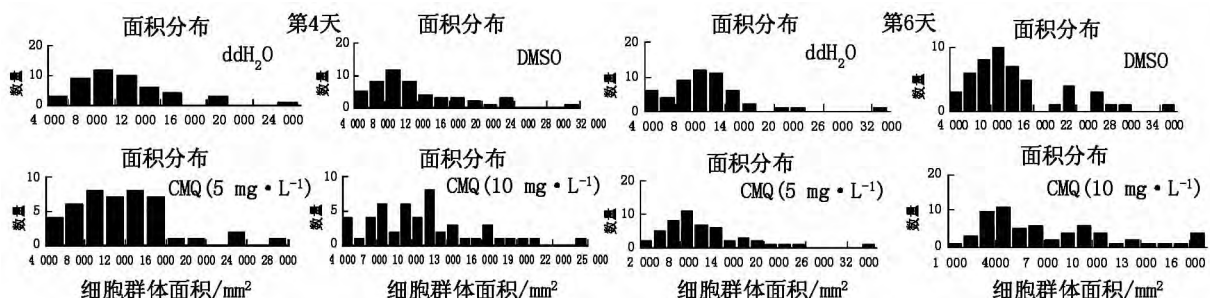


图3 CMQ 对 *M. aeruginosa* 细胞群体面积大小的影响

表1 CMQ 对 *M. aeruginosa* 细胞群体面积大小和颗粒大小的影响

CMQ 不同处理	第4天		第6天	
	群体面积/mm ²	颗粒大小/mm	群体面积/mm ²	颗粒大小/mm
ddH ₂ O	6 000 ~ 12 000	111.68	8 000 ~ 14 000	122.03
DMSO	6 000 ~ 12 000	116.82	8 000 ~ 14 000	130.04
5.0 mg · L ⁻¹	8 000 ~ 16 000	114.33	6 000 ~ 12 000	97.98
10.0 mg · L ⁻¹	7 000 ~ 13 000	112.36	3 000 ~ 7 000	74.06

3 讨论

本研究结果表明 在高浓度的 CMQ(>5.0 mg · L⁻¹) 处理下 ,从第4 天起 *M. aeruginosa* 群体的生长就表现出明显的抑制作用 ,抑制效果存在一定的浓度效应 ,10 mg · L⁻¹ CMQ 几乎能够完全抑制群体细胞的生长. 通过回归分析得出 CMQ 对微囊藻群体的50% 生长抑制率(*EC*₅₀) 为 1.93 mg · L⁻¹. 本研究所得到的 *EC*₅₀ 值同前期关于 CMQ 对单细胞微囊藻的生长抑制所得到的 *EC*₅₀ 非常接近 ,表明了微囊藻对 CMQ 响应的一致性. 并且本研究利用群体状的微囊藻所得到的结果 ,更能代表自然的微囊藻的形态和生理状态. 作为评价抑藻能力的重要标准 ,CMQ 的 *EC*₅₀ 值虽然略高于以前报道的某些化感物质 ,如焦桉酸(*EC*₅₀ 0.65 mg · L⁻¹) 、没食子酸(*EC*₅₀ 1 mg · L⁻¹) ,但却显著低于某些化感抑藻物质 ,如鞣花酸(*EC*₅₀ 5.1 mg · L⁻¹) 、(+)-儿茶酸(*EC*₅₀ 5.5 mg · L⁻¹) 、3-酮基- α -紫罗兰酮 (*EC*₅₀ ,22.09 mg · L⁻¹) [19-22]. 实验结果表明 CMQ 具有较高效的抑藻活性 ,能够有效地抑制群体细胞的生长 ,有望将其开发为一种有效的除藻剂.

水华蓝藻特别是微囊藻形成蓝藻水华的生理生态机制并没有完全搞清 ,但是在富营养蓝藻水华形成的关键主要在于生物量的快速增加和细胞上浮 ,这在很大程度上取决于群体的形成、扩大以及伪空胞对细胞浮力的调节. 微囊藻在自然水体中的竞争优势也主要源于微囊藻细胞的群体效应和伪空胞结构 ,所以极易成为蓝藻水华的优势种. 微囊藻细胞在野外环境中主要以群体形态存在 ,群体微囊藻细胞外都具有一层胶被. 胶被赋予了群体微囊藻许多重要的生物学功能 ,如能吸附金属离子 ,有利于微囊藻群体的生长; 胶被也为群体细胞提供了天然的保护屏障. 此外 ,胶被还为群体细胞提供了低氧化还原的微环境 ,使微囊藻细胞免受氧化损伤 [23]. 同时 ,群体的形成 ,还增加了微囊藻细胞吸收和利用光能的效

率 ,增强了细胞对无机碳源的利用率以及抵御环境胁迫的能力 [24]. 本研究的结果表明 CMQ 能够明显导致 *M. aeruginosa* 细胞群体颗粒变小 ,这对于自然水体中的微囊藻细胞是极为不利的. 群体颗粒变小 ,将降低微囊藻细胞对光能和无机碳的利用率 ,降低细胞获取营养盐、抵御氧化胁迫和光损伤的能力; 同时 ,变小的 *M. aeruginosa* 细胞群体也更易于被水生生物所捕食.

伪空胞是蓝藻细胞的一种特殊结构 ,可调节细胞自身在水体中的浮力 ,使藻细胞在水层中发生垂直迁移 ,这种活动具有一定的昼夜节律性和季节节律性. 微囊藻可以通过调控伪空胞的形成与破裂 ,以及镇重物的含量 ,调节其自身的浮力 ,自主选择适合其生长的水层和光照条件 [25]. 在昼夜交替过程中 ,随着光强的不断变化 ,这种调控方式有利于微囊藻规避强光的光氧化和光损伤 ,在光照较弱时获得更多的光照和营养物质 ,获得最有利的生长繁殖条件 ,最终成为优势种群 [26]. CMQ 能打破这种浮力平衡 ,导致微囊藻群体出现沉降现象. 这将使得微囊藻细胞不能根据自身营养和光照需求 ,调控自身在垂直水层中的分布 ,也就不能获得生长繁殖所必需的营养和光照条件 ,表现出生长抑制或死亡; 在野外环境中 ,沉底细胞由于光照、底泥和细菌等因素的影响 ,更容易降解死亡.

综上所述 ,CMQ 具有良好的抑藻效果 ,能够明显地抑制 *M. aeruginosa* 群体细胞的生长繁殖. 高浓度的 CMQ(>5.0 mg · L⁻¹) 能够打破群体细胞的浮力平衡 ,导致细胞沉降; 此外 ,高浓度的 CMQ 还能明显导致群体细胞颗粒变小 ,进而对群体微囊藻细胞产生多种不利影响.

4 参考文献

[1] 谢平. 论蓝藻水华发生机制: 从生物进化、生物地球化学和生态学观点 [M]. 北京: 科学出版社 2007: 161.
[2] 连民 ,刘颖 ,俞顺章 ,等. 饮水中微囊毒素对人群健康影

- 响的横断面研究 [J]. 中华流行病学杂志, 2000, 21 (6): 437-440.
- [3] 胡春华, 张培, 曾思苗, 等. 鄱阳湖不同形态氮的时空分布特征 [J]. 江西师范大学学报: 自然科学版, 2012, 36 (2): 213-217.
- [4] 胡春华, 周文斌, 黄宗兰, 等. 环鄱阳湖区农村饮用水重金属健康风险评价 [J]. 江西师范大学学报: 自然科学版, 2010, 34(1): 102-106.
- [5] 沈银武, 刘永定, 吴国樵, 等. 富营养湖泊滇池水华蓝藻的机械清除 [J]. 水生生物学报, 2004, 28(2): 131-136.
- [6] 王朝晖, 林少君, 韩博平, 等. 广东省典型大中型供水水库和湖泊微囊藻毒素分布 [J]. 水生生物学报, 2007, 31(3): 307-311.
- [7] Sedmak B, Kosi G. The role of microcystins in heavy cyanobacterial bloom formation [J]. J Plankton Res, 1998, 20 (4): 691-708.
- [8] 徐涛, 宋立荣. 3 株铜绿微囊藻对外源无机碳利用的研究 [J]. 水生生物学报, 2007, 31(2): 245-250.
- [9] Shen Hong, Song Lirong. Comparative studies on physiological responses to phosphorus in two phenotypes of bloom-forming *Microcystis* [J]. Hydrobiologia, 2007, 592 (1): 475-486.
- [10] Bolch C J S, Blackburn S I. Isolation and purification of Australian isolates of the toxic cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* Kütz [J]. J Appl Phycol, 1996, 8(1): 5-13.
- [11] 成慧敏, 邱保胜. 蓝藻的伪空胞及其对蓝藻在水中垂直分布的调节 [J]. 植物生理学通讯, 2006, 42(5): 974-980.
- [12] 俞顺章, 赵宁, 资晓林, 等. 饮水中微囊藻毒素与我国原发性肝癌关系的研究 [J]. 中华肿瘤杂志, 2001, 23 (2): 96-99.
- [13] Shao Jihai, Wu Zhongxin, Yu Gongliang, et al. Allelopathic mechanism of pyrogallol to *Microcystis aeruginosa* PCC7806 (Cyanobacteria): From views of gene expression and antioxidant system [J]. Chemosphere, 2009, 75: 924-928.
- [14] Shao Jihai, Yu Gongliang, Wang Zhongjie, et al. Towards clarification of the inhibitory mechanism of wheat bran leachate on *Microcystis aeruginosa* NIES-843 (cyanobacteria): physiological responses [J]. Ecotoxicology, 2010, 19 (8): 1634-1641.
- [15] Kang Y K, Cho S Y, Kang Y H, et al. Isolation, identification and characterization of algicidal bacteria against *Stephanodiscus hantzschii* and *Peridinium bipes* for the control of freshwater winter algal blooms [J]. J Appl Phycol, 2008, 20: 375-386.
- [16] D'Yakonov A L, Telezhenetskaya M V. Quinazoline alkaloids in nature [J]. Chem Nat Compd, 1997, 33: 221-267.
- [17] Wilson A E, Kaul R B, Sarnelle O. Growth rate consequences of coloniality in a harmful Phyto-plankter [J]. Plos One, 2010, 5(1): e8679.
- [18] 张永生, 孔繁翔, 于洋, 等. 蓝藻伪空胞的特性及浮力调节机制 [J]. 生态学报, 2010, 30(18): 5077-5090.
- [19] Nakai S, Inoue Y, Hosomi M, et al. *Myriophyllum spicatum*-released allelopathic polyphenols inhibiting growth of blue-green algae *Microcystis aeruginosa* [J]. Water Res, 2000, 34(11): 3026-3032.
- [20] Gross E M, Meyer H, Schilling G. Release and ecological impact of algicidal hydrolysable polyphenols in *Myriophyllum spicatum* [J]. Phytochemistry, 1996, 41(1): 133-138.
- [21] Li Fengmin, Hu Hongying. Isolation and characterization of a novel antialgal allelochemical from *Phragmites communis* [J]. Appl Environ Microbiol, 2005, 71(11): 6545-6553.
- [22] Wu Yonghong, Liu Jiantong, Yang Linzhang, et al. Allelopathic control of cyanobacterial blooms by periphyton biofilms [J]. Environ Microbiol, 2011, 13(3): 604-615.
- [23] Reynolds C S. Variability in the provision and function of mucilage in phytoplankton: facultative responses to the environment [J]. Hydrobiologia, 2007, 578(1): 37-45.
- [24] Paerl H W. Partitioning of CO₂ fixation in the colonial cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*: mechanism promoting formation of surface scums [J]. Appl Environ Microbiol, 1983, 46(1): 252-259.
- [25] Walsby A E, Avery A, Schanz F. The critical pressures of gas vesicles in *Planktorhrix rubescens* in relation to the depth of winter mixing in Lake Zürich, Switzerland [J]. J Plankton Res, 1998, 20(7): 1357-1375.
- [26] Wallace B B, Bailey M C, Hamilton D P. Simulation of vertical position of buoyancy regulating *Microcystis aeruginosa* in a shallow eutrophic lake [J]. Aquat Sci, 2000, 62(4): 320-333.

The Cloning and Bioinformatics Analysis of Der f4 Gene from the *Dermatophagoide farinae*

WAN Qian¹, CHEN Xian-xiong², SUN Xin¹, ZHONG Zheng-rong^{1*}, LIU Zhi-gang^{2*}

(1. Department of Clinical Laboratory, The First Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Bengbu Anhui 233000, China;

2. Allergy and Immunology Institute, School of Medicine, Shenzhen University, Shenzhen Guangdong 518600, China)

Abstract: RNA was extracted from Shenzhen area and the full-length of Der f4 gene was amplified by RT-PCR with the primers designed according to previous sequence published in Hong Kong chinese university. The target gene was cloned into pUC57 plasmid and sequenced. Der f4 gene was recombined into pET-28a expression vector following sequencing identification. And then Der f4 protein was characterized by bioinformatics software. The opening reading frame (ORF) of Der f4 was obtained by RT-PCR and was 1 593 bp in full length. The protein encoded by this sequence was deduced to be consisted with 526 amino acids. Bioinformatics analysis of Der f4 which proved to be hydrophobic proteins associated with amylase inhibitors function. Structure domain contained signal peptide and multiple phosphorylation site. The full-length cDNA for Der f4 obtained, which should encode a hydrophobic extracellular protein associated with inhibition of amylase.

Key words: *Dermatophagoide farinae*; Der f4; bioinformatics; clone

(责任编辑: 刘显亮)

(上接第 318 页)

The Effects of CMQ on Growth of Colonial *Microcystis aeruginosa* and Its Practical Application Perspective in the Control of Cyanobacterial Blooms

ZHAO Yang¹, YE Xing-lin^{1,2}, YANG Qin¹, LIU Wei-sheng¹, PENG Yi-yuan^{1*}

(1. Key Laboratory of Functional Small Organic Molecules, Ministry of Education and College of Life Science, Jiangxi Normal University,

Nanchang Jiangxi 330022, China; 2. College of Chemistry and Environmental Engineering, Jiujiang University, Jiujiang Jiangxi 332005, China)

Abstract: Along with increasing eutrophication in recent years, massive cyanobacterial blooms have become a severe environmental problem in freshwaters worldwide. Therefore, developing an effective method to control the cyanobacterial bloom is essential to guarantee the water quality security and to recover the aquatic ecosystem. Quinazoline derivatives, endowed with a broad spectrum of biological activities and therapeutic properties, had a potential ability to inhibit the growth of *Microcystis* and control the cyanobacterial blooms. In this study, it was shown that CMQ could intensely inhibit the growth of *M. aeruginosa* groups at the concentration of higher than $5.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ of CMQ, with EC_{50} for 4 d as $1.93 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. The change of colony morphology and volume size in *Microcystis aeruginosa* also suggested that CMQ could break down the *M. aeruginosa* colonies and cause the smaller size of *Microcystis* colonies, and led to obvious settlement of these colonies. Based on the results that CMQ had exhibited efficient antialgal activities, it is further implicated that CMQ have a practical application perspective in the control of cyanobacterial blooms.

Key words: CMQ; cell; groups; *Microcystis*; cyanobacterial blooms

(责任编辑: 刘显亮)