

硫酸铵盐析条件对多管藻 R-藻红蛋白和 R-藻蓝蛋白得率和纯度的影响

朱丽萍^{1,2}, 颜世敢^{2,3}, 李雁冰², 周百成⁴

1. 山东轻工业学院食品与生物技术学院, 济南 250353
2. 中国农业科学院兽医生物技术国家重点实验室, 哈尔滨 150001
3. 山东省农业科学院畜牧兽医研究所, 济南 250100
4. 中国科学院海洋研究所, 山东青岛 266071

摘要 藻胆蛋白是一类用途广泛、市场前景广阔天然色素蛋白, 但分离纯化困难。粗提条件优化对最终获得的藻胆蛋白的得率和纯度影响较大。研究了硫酸铵饱和度、盐析次数、分级盐析对海洋红藻多管藻 R-藻红蛋白(RPE)和 R-藻蓝蛋白(RPC)提取得率和纯度的影响。结果表明, 多管藻 RPE 和 RPC 的得率随硫酸铵饱和度的提高而增加, 饱和度为 60% 时得率最高, 分别为 91.59%、97.98%。饱和度 20% 的硫酸铵仍能沉淀 47.3% 的 RPE 和 24.8% 的 RPC。RPE 的纯度随硫酸铵饱和度的提高而降低, 但 RPC 纯度随硫酸铵饱和度的提高而增加, 至饱和度为 45% 时纯度最高, 之后随饱和度的提高而缓慢降低。饱和度 <40% 时, RPE/RPC 得率比随硫酸铵饱和度提高而增加; 饱和度 >40% 时, RPE/RPC 得率比趋于稳定。硫酸铵盐析 2 次与盐析 1 次相比, RPE、RPC 的得率降低, 但纯度提高。二步法盐析比一步法盐析 RPE、RPC 的纯度分别提高 122.42%、18.67%, 但得率降低。因此硫酸铵盐析提取多管藻 RPE、RPC 时, 以饱和度 60% 为宜, 盐析 2 次, 二步法盐析有利于藻胆蛋白纯度的提高, 二步法盐析时初次使用的硫酸铵饱和度应 <20%。藻胆蛋白盐析条件优化可为藻胆蛋白的进一步分离纯化奠定基础。

关键词 多管藻; 藻胆蛋白; R-藻红蛋白; R-藻蓝蛋白; 得率; 纯度; 硫酸铵沉淀

中图分类号 Q51

文献标识码 A

文章编号 1000-7857(2010)04-0037-05

Purification and Recovery of R-phycoerythrin and R-phyocyanin from *Polysiphonia urceolata* under Different Ammonium Sulfate Precipitation Conditions

ZHU Liping^{1,2}, YAN Shigan^{2,3}, LI Yanbing², ZHOU Baicheng⁴

1. School of Food and Bioengineering, Shandong Institute of Light Industry, Jinan 250353, China
2. State Key Lab of Veterinary Biotechnology, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150001, China
3. Institute of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, Shandong Academy of Agricultural Sciences, Jinan 250100, China
4. Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, Shandong Province, China

Abstract Phycobiliproteins are a family of natural pigment proteins with wide applications and promising market prospects, but their extraction and purification is difficult. Extraction optimization plays an important role in the recovery and purification of the final phycobiliproteins. In this paper, ammonium sulfate saturation, precipitation frequency, ammonium sulfate fractionation are employed to extract R-phycoerythrin and R-phyocyanin from marine red alga *Polysiphonia urceolata*. The results show that the yields of RPE and RPC are increased with increasing ammonium sulfate saturation. At 60% saturation, their yields reach the highest, up to 91.59% and

收稿日期: 2009-11-25

基金项目: 兽医生物技术国家重点实验室开放基金项目(SKL VBF200909)

作者简介: 朱丽萍, 讲师, 研究方向为食品微生物学和分子生物学, 电子信箱: zhulp2004@sohu.com; 颜世敢(通信作者), 副研究员, 研究方向为微生物学与免疫学, 电子信箱: yanshigan@yahoo.com.cn

97.98%, respectively. 20% saturation could still precipitate 47.3% of RPE and 24.8% of RPC. The purity of RPE is decreased with increasing salt concentration. However, RPC purity is increased with increasing ammonium sulfate saturation, at 45% saturation, the purity reaches the highest, and then slowly decreases as the saturation further increases. During the saturation of 20%~40%, the recovery ratio of RPE and RPC increases with increasing salt concentration; at 40%, the ratio reaches the highest, then is stabilized above 40%. The twice ammonium sulfate precipitation is better than once for RPE and RPC extraction, their yields fall, but their purity is increased. Ammonium sulfate fractionation could significantly increase the purity of RPE and RPC, by 122.42% and 18.67%, as compared to one-step salting, but their yield is decreased significantly. So 60% saturation of ammonium sulfate is suitable for extraction of RPE and RPC from *Polysiphonia urceolata*, twice salting and two-step fractionation are good for purity increasing, but the first fractionation saturation of ammonium sulfate should be below 20%. This study can be a help for the phycobiliproteins purification.

Keywords *Polysiphonia urceolata*; phycobiliprotein; R-phycoerythrin; R-phyocyanin; recovery; purity; ammonium sulfate precipitation

0 引言

藻胆蛋白是存在于蓝藻、红藻中的水溶性光合色素蛋白的总称,分为藻红蛋白、藻蓝蛋白、别藻蓝蛋白三大类,每类又根据来源和光谱特征分为多个小类,辅以前缀 R-、B-、C-等。藻胆蛋白安全无毒,性质稳定,色泽鲜艳,荧光明亮,具有抗氧化、增强免疫、抑制肿瘤等多种生物学活性,被广泛用作食品或化妆品的天然色素、保健品(如免疫调节剂、抗氧化剂)和药品(如荧光检测试剂、抑瘤剂、光敏治疗剂)^[1-2]。试剂级的藻胆蛋白售价高达 100 美元/mg。

多管藻(*Polysiphonia urceolata*)是生长于中国沿海地区潮间带的野生海洋红藻,含有大量的 R-藻红蛋白(R-phycoerythrin, RPE)和 R-藻蓝蛋白(R-phyocyanin, RPC),且多糖含量相对较低,是分离纯化藻胆蛋白的良好材料^[3-4]。多管藻的野生资源丰富,春季繁盛,3—5 月份进入繁殖期,然后大型世代消失,常年自生自灭。多管藻不能作为食品或饲料用,从中提取藻胆蛋白可变废为宝,创造巨大经济效益。多管藻 RPE 为典型的三峰型藻红蛋白,最大吸收峰分别位于 498、540、565nm,蓝绿光激发下能发出明亮的橘黄色荧光,是理想的荧光标记物。多管藻 RPC 是唯一同时含有藻蓝胆素(PCB)和藻红胆素(PEB)的藻胆蛋白,是研究荧光能量传递的较好模型。

藻胆蛋白为胞内膜蛋白,藻细胞破碎后水溶性的藻胆蛋白由胞内释放到胞外溶液中,但细胞壁中的多糖和杂质等也同时释放出来,因此藻胆蛋白的提取和纯化比较困难。藻胆蛋白的分离纯化一直是研究的热点,近年来时有藻胆蛋白的高效分离纯化方法报道,但对粗提条件优化研究较少。硫酸铵沉淀、活性炭吸附、等电点沉淀和超滤法等方法可去除大部分杂质,利于提高最终获得的藻胆蛋白的纯度和效率。硫酸铵盐析具有初步纯化和浓缩双重效果,常被用于藻胆蛋白的分离纯化。通常采用饱和度 30%的硫酸铵沉淀去除杂质,30%~70%饱和度的硫酸铵溶液沉淀藻胆蛋白,但不同材料来源和种类的藻胆蛋白硫酸铵盐析时要筛选适宜的饱和度。螺旋藻、条斑紫菜、红毛藻藻胆蛋白盐析条件优化已有报道^[5-7]。本课题组曾报道溶胀法提取多管藻藻胆蛋白^[8],本研究分析硫酸铵饱和度、盐析次数、分级盐析对海洋红藻多管藻中 R-

藻红蛋白和 R-藻蓝蛋白提取得率和纯度的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

多管藻:采自青岛太平角潮间带,去除杂藻,挤干水分,冷冻保存。

硫酸铵:分析纯(国产)。

1.2 仪器

紫外-可见光分光光度计,UV/VIS-550 型(日本 Jasco 公司)。

离心机,5804R 型(Eppendorf 公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 多管藻藻胆蛋白溶液制备

取冷冻保存的多管藻,按 1:10(g/mL)比例加入 50mmol/L PBS 缓冲液(pH 值 7.0),置 4℃溶胀破壁 2d。多层纱布过滤,挤尽红色汁液,离心,上清即为藻胆蛋白粗提液。测定吸光度,计算 RPE、RPC 的含量及纯度。

1.3.2 藻胆蛋白纯度和浓度测定

藻胆蛋白的纯度用其最大可见光吸收峰的吸光度与其在 280nm 处的蛋白质吸光度的比值($A_{\lambda_{max}}/A_{280}$)表示。藻胆蛋白的浓度以 Bennett & Bogorad(1973)的公式计算^[9]:

$$[PC] = \frac{OD_{615} - 0.474 \times OD_{662}}{5.34}$$

$$[APC] = \frac{OD_{662} - 0.208 \times OD_{615}}{5.09}$$

$$[PE] = \frac{OD_{562} - 2.41 \times [PC] - 0.849 \times [APC]}{9.62}$$

式中,藻胆蛋白的浓度单位为 mg/mL,PC 为藻蓝蛋白,PE 为藻红蛋白,APC 为别藻蓝蛋白。

1.3.3 硫酸铵饱和度对藻胆蛋白提取得率和纯度的影响

取藻胆蛋白粗提液,每份 50mL,置磁力搅拌器上,冰浴中缓慢加入研磨的硫酸铵粉末,边加边搅拌,待硫酸铵全部溶解后再继续搅拌 30min,使溶液中硫酸铵的饱和度分别达到 10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、70%、80%,4℃过夜,10000r/min 离心 20min(4℃),沉淀用适量 PBS 重溶,测定吸收光谱,计算 RPE、RPC 得率、纯度。

1.3.4 硫酸铵盐析次数对藻胆蛋白提取得率和纯度的影响

分别用饱和度为 60% 的硫酸铵盐析 1、2、3 次, 计算 RPE、RPC 得率和纯度。

取藻胆蛋白粗提液 50mL, 按 1.3.3 的方法用饱和度为 60% 的硫酸铵盐析 1 次, 离心, 弃上清液, 取沉淀, 用 50mL PBS 重溶, 测定溶液的吸收光谱, 计算硫酸铵盐析一次的 RPE、RPC 得率、纯度。在上述重溶液中再次用饱和度为 60% 硫酸铵沉淀, 依次获得硫酸铵盐析二、三次的 RPE、RPC 得率、纯度。

1.3.5 硫酸铵分级沉淀对藻胆蛋白提取得率和纯度的影响

按 1.3.3 的方法, 先用饱和度 20% 的硫酸铵盐析, 离心, 去沉淀, 上清液中继续加硫酸铵至终饱和度为 60%, 比较分级沉淀与直接用饱和度 60% 的硫酸铵盐析对藻胆蛋白的得率和纯度的影响。

2 结果与分析

2.1 硫酸铵饱和度对多管藻 RPE、RPC 得率的影响

随硫酸铵的饱和度提高, RPE、RPC 得率增加, 至硫酸铵饱和度为 60% 时, RPE 和 RPC 的得率最高, 分别为 91.59%、97.98%, 然后二者得率随着硫酸铵饱和度增加而降低。硫酸铵饱和度为 40%~80% 时, RPE 和 RPC 得率维持在 80% 以上。饱和度 20% 的硫酸铵仍能沉淀出 47.3% 的 RPE 和 24.8% 的 RPC, 这提示在硫酸铵分级沉淀藻胆蛋白时, 硫酸铵饱和度应 <20%, 否则会损失一部分藻胆蛋白, 尤其是显著降低 RPE 得率。结果见图 1。

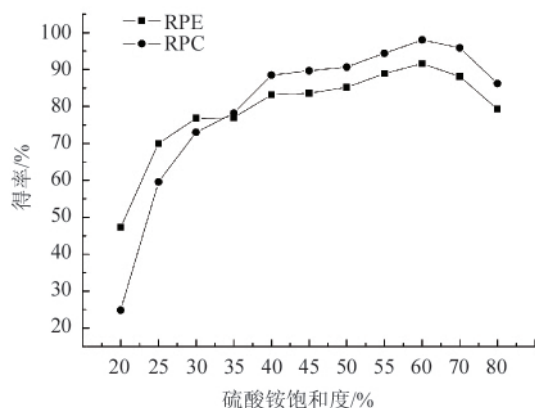


图 1 硫酸铵饱和度对多管藻 RPE、RPC 得率影响

Fig. 1 Recovery of RPE and RPC after different concentrations of ammonium sulfate precipitation

2.2 硫酸铵饱和度对 RPE、RPC 纯度的影响

多管藻 RPE 的纯度随着硫酸铵的饱和度增加而缓慢降低, 这与硫酸铵盐析对红毛藻 RPE 纯度影响规律一致^[6]。硫酸铵饱和度为 20% 时, RPE 的纯度为 0.7033; 硫酸铵饱和度为 80% 时, RPE 的纯度为 0.4565。RPC 的纯度随着硫酸铵的饱和

度增加而缓慢提高, 至硫酸铵饱和度为 45% 时, RPC 的纯度最高, 然后缓慢降低(图 2)。

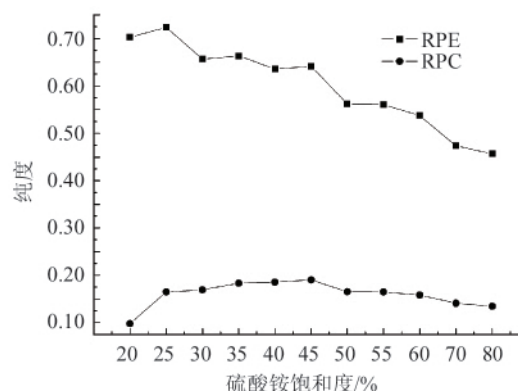


图 2 硫酸铵饱和度对多管藻 RPE、RPC 纯度影响

Fig. 2 Purity of RPE and RPC after different concentrations of ammonium sulfate precipitation

2.3 硫酸铵饱和度对 RPE/RPC 得率比的影响

RPC/RPE 得率比随硫酸铵饱和度增加而缓慢增加, 饱和度 >40% 时维持在一个相对稳定的水平。硫酸铵饱和度 <40% 时 RPC 沉淀量少, RPE 分子量大而容易沉淀, 所以 RPC/RPE 比值低; 硫酸铵饱和度 >40% 时, 二者的沉淀量都增加, 所以比值变大。结果见图 3。

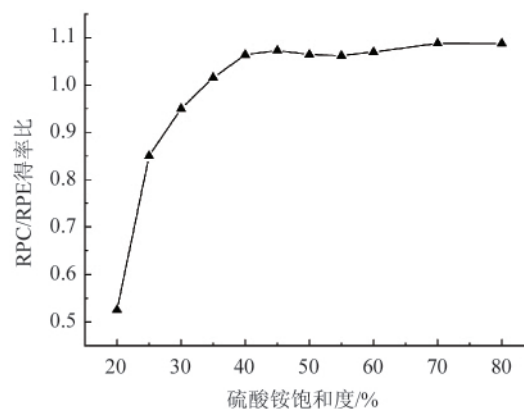


图 3 硫酸铵饱和度对多管藻 RPC/RPE 得率比影响

Fig. 3 Recovery ratio of RPC to RPE after different concentrations of ammonium sulfate precipitation

2.4 硫酸铵盐析次数对 RPE、RPC 得率和纯度的影响

60% 硫酸铵盐析 1、2、3 次对 RPE、RPC 得率和纯度的影响结果见图 4。盐析 2 次比盐析 1 次 RPE、RPC 的得率分别由 91.04%、88.43% 下降为 71.47%、62.64%, 纯度由 0.5603、0.1348 提高为 0.8888、0.1893; 盐析 3 次与盐析 2 次对 RPE、RPC 的得率和纯度影响不明显。实际提取藻胆蛋白时考虑到时间、试剂成本, 硫酸铵盐析提取藻胆蛋白以 2 次为宜。

2.5 硫酸铵分级沉淀对 RPE、RPC 得率和纯度的影响

先用 20% 硫酸铵盐析, 再用 60% 饱和度硫酸铵分级盐

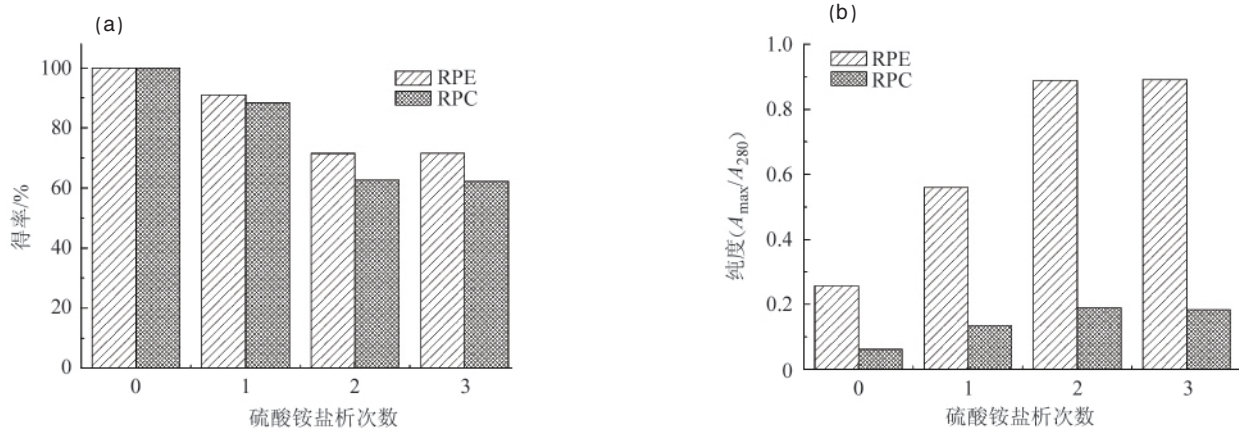


图 4 硫酸铵盐析次数对多管藻 RPE、RPC 得率和纯度影响

Fig. 4 Purity and recovery of RPE and RPC after different times of ammonium sulfate precipitation

析,对多管藻藻胆蛋白的得率和纯度的影响结果见图 5。二步法盐析比一步法盐析提取多管藻 RPE、RPC 的得率明显降低,但纯度明显提高。一步法盐析提取 RPE、RPC 的得率分别为 85.19%、90.68%,而二步法盐析的得率仅为 58.14%、

64.82%,这是因为 20%的硫酸铵在去除杂质的同时也沉淀了部分藻胆蛋白。一步法盐析提取多管藻 RPE、RPC 的纯度分别为 0.562、0.166,而二步法盐析 RPE、RPC 的纯度为 1.25、0.197,二步法盐析使 RPE 的纯度提高 122.42%。

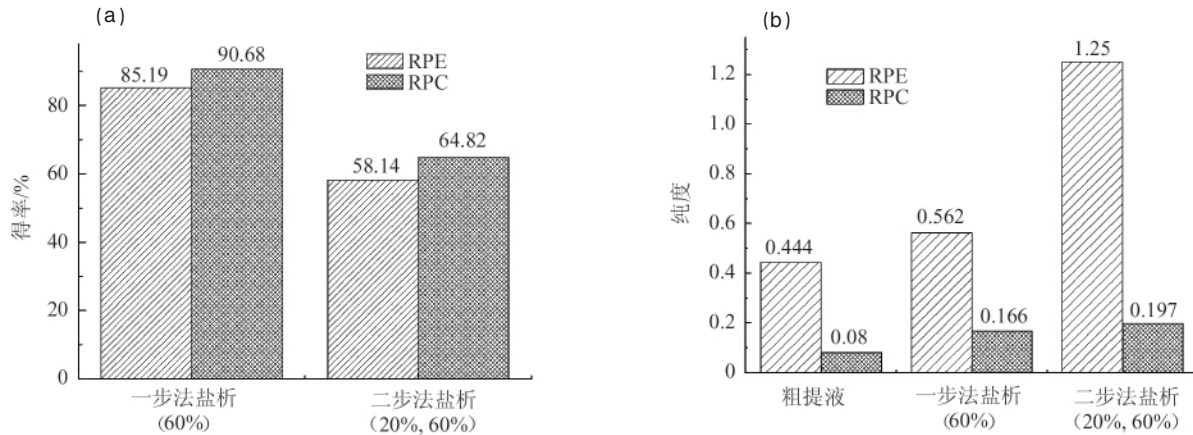


图 5 硫酸铵分级盐析对多管藻 RPE、RPC 得率和纯度的影响

Fig. 5 Recovery and purity of RPE and RPC after two-step ammonium sulfate precipitation

3 讨论

藻细胞中藻胆蛋白的含量约占细胞干重的 15%~40%,目前国际上普遍采用从天然或人工培养的藻中提取藻胆蛋白。藻红蛋白通常从条斑紫菜、坛紫菜、红毛菜、紫球藻中提取,藻蓝蛋白和别藻蓝蛋白通常从螺旋藻中提取。为揭示藻类的遗传进化规律、光合作用机理,各国学者仍在探索从不同区域、生境、种类的藻中分离纯化藻胆蛋白。多管藻藻胆蛋白含量高,琼胶、卡拉胶等多糖含量低,是提取三峰型 RPE 的好材料。在此基础上,中国许多学者对多管藻藻胆蛋白的特性、结构与功能进行了深入研究,高分辨率 RPE、RPC 的晶体结构相继解析出来,中国多管藻藻胆蛋白研究走在了世界的前列^[3-4,10-16]。

多管藻藻胆蛋白的分离纯化研究侧重于运用阴离子交换层析、扩张床层析等方法高效纯化^[4,10],对粗提条件优化研

究较少。硫酸铵盐析预处理藻胆蛋白,能够收到初步纯化和浓缩双重效果,有利于后续的藻胆蛋白的纯化。

盐析的原理是利用高浓度的盐离子在蛋白质溶液中与蛋白质竞争水分子,破坏蛋白质表面的水化膜,降低其溶解度,使之从溶液中沉淀出来。每种蛋白质带电荷数、分子量、溶解度不同,可利用不同浓度的盐溶液来沉淀不同的蛋白质。通常蛋白质的分子量越大、电荷越多沉淀时需要硫酸铵的饱和度越低。一般情况下饱和度 50%的硫酸铵溶液可将大部分藻胆蛋白沉淀出来。为使藻胆蛋白沉淀完全,可将硫酸铵的饱和度加大至 60%~70%。分级沉淀法可提高纯度,如用 15%~30%饱和度的硫酸铵溶液沉淀去除杂质,然后再用 60%~70%饱和度的硫酸铵沉淀藻胆蛋白。

由于蛋白质带电荷数、分子量不同,硫酸铵沉淀藻胆蛋

白时要筛选适宜的饱和度。硫酸铵盐析螺旋藻藻胆蛋白时,用 30%硫酸铵沉淀去除杂质,50%硫酸铵沉淀 C-藻蓝蛋白,65%硫酸铵沉淀别藻蓝蛋白^[7]。55%硫酸铵可沉淀条斑紫菜 RPE 和 C-藻蓝蛋白,多次盐析能提高纯度^[5]。60%硫酸铵改良结晶法盐析红毛藻藻胆蛋白效果最好^[6]。本研究分析了盐析条件对多管藻藻胆蛋白提取效果的影响。60%硫酸铵盐析多管藻 RPE、RPC 得率最高,RPE 的纯度随硫酸铵饱和度增加而降低,45%硫酸铵盐析多管藻 RPC 纯度最高,分级沉淀或多次盐析能提高多管藻藻胆蛋白纯度。本次研究发现 20%的硫酸铵即可沉淀出一定量的 RPE 和 RPC,这与红毛藻、螺旋藻藻胆蛋白盐析条件差别较大^[6-7]。为避免分离纯化过程中造成藻胆蛋白损失,硫酸铵分级沉淀多管藻藻胆蛋白去除杂质时选用饱和度应小于 20%,甚至可以直接用饱和度 60%硫酸铵沉淀法粗提。

硫酸铵沉淀粗提藻胆蛋白效果较好,盐析时藻胆蛋白溶液的浓度以 2.5%~3.0%为宜,浓度太大会发生蛋白质共沉淀。硫酸铵要研磨细,边缓慢加入边搅拌,并在冰浴上进行。硫酸铵加完后要继续搅拌半小时,4℃静置 4h 以上,使藻胆蛋白完全析出。调节溶液 pH 到等电点附近,有利于藻胆蛋白的析出。

4 结论

1) 研究了硫酸铵饱和度、盐析次数、分级盐析对海洋红藻多管藻 R-藻红蛋白(RPE)和 R-藻蓝蛋白(RPC)提取得率和纯度的影响,为藻胆蛋白的进一步分离纯化奠定了基础。

2) 硫酸铵饱和度对多管藻 RPE 和 RPC 的得率和纯度影响较大。RPE 和 RPC 得率随硫酸铵饱和度的提高而增加,至饱和度为 60%时 RPE、RPC 得率最高,分别为 91.59%、97.98%。饱和度 20%的硫酸铵仍能沉淀 47.3%的 RPE 和 24.8%的 RPC,因此分级沉淀藻胆蛋白时初次采用的硫酸铵饱和度应<20%。RPE 的纯度随硫酸铵饱和度提高而降低;RPC 纯度随硫酸铵饱和度提高而增加,至饱和度为 45%时纯度最高,之后随饱和度提高而缓慢降低。饱和度<40%时,RPE/RPC 得率比随硫酸铵饱和度提高而增加;饱和度>40%时,RPE/RPC 得率比趋于稳定。

3) 硫酸铵盐析 2 次与盐析 1 次相比,RPE、RPC 的纯度提高,但盐析 3 次与盐析 2 次相比,对得率和纯度影响不明显。

4) 硫酸铵二步法盐析能提高 RPE 和 RPC 的纯度,但得率明显降低。一步法盐析比二步法盐析 RPE、RPC 的得率分别提高 27.05%、25.84%,而二步法盐析比一步法盐析 RPE、RPC 的纯度分别提高 122.42%、18.67%。

参考文献 (References)

[1] 颜世敢,朱丽萍,张玉忠,等.藻胆蛋白荧光探针在动物疫病检测中的应用展望[J].中国动物检疫,2009,26(1):36-37.
Yan Shigan, Zhu Liping, Zhang Yuzhong, et al. Chinese Journal of

Animal Health Inspection, 2009, 26(1): 36-37.
[2] 颜世敢,朱丽萍,张玉忠,等. R-藻红蛋白标记抗体荧光探针的高效制备及其在禽流感病毒检测中的应用[J].南京农业大学学报,2009,32(2):92-96.
Yan Shigan, Zhu Liping, Zhang Yuzhong, et al. Journal of Nanjing Agricultural University, 2009, 32(2): 92-96.
[3] 潘忠正,周百成,曾呈奎.青岛海产红藻 R-藻红蛋白光谱特性的比较研究[J].海洋与湖沼,1987,18(5):419-425.
Pan Zhongzheng, Zhou Baicheng, Zeng Chengkui. Oceanologia et Limnologia Sinica, 1987, 18(5): 419-425.
[4] Liu L N, Chen X L, Zhang X Y, et al. One-step chromatography method for efficient separation and purification of R-phycoerythrin from *Polysiphonia urceolata* [J]. Journal of Biotechnology, 2005, 116 (1): 91-100.
[5] 蔡春尔,何培民.硫酸铵三步盐析对藻胆蛋白纯化的影响[J].生物技术通报,2006,4:121-125.
Cai Chuner, He Peimin. Biotechnology Bulletin, 2006, 4: 121-125.
[6] 郑江,高亚辉,王文星,等.红毛藻藻红蛋白的粗提方法比较及不同光照条件下藻胆蛋白变性机制的初步探讨[J].厦门大学学报:自然科学版,2003,42(1):117-122.
Zheng Jiang, Guo Yahui, Wang Wengxing, et al. Journal of Xiamen University: Natural Science, 2003, 42(1): 117-122.
[7] Zhang Y, Chen F. A simple method for efficient separation and purification of C-phycoerythrin and allophycoerythrin from *Spirulina platensis* [J]. Biotechnology Techniques, 1999, 13(9): 601-603.
[8] 朱丽萍,颜世敢,张玉忠.溶胀因素对多管藻藻胆蛋白粗提得率和纯度影响[J].食品研究与开发,2009,30(9):65-68.
Zhu Liping, Yan Shigan, Zhang Yuzhong. Food Research and Development, 2009, 30(9): 65-68.
[9] Bennett A, Bogorad L. Complementary chromatic adaption in a filamentous blue-green alga[J]. Journal of Cell Biology, 1973, 58: 419-435.
[10] Niu J F, Wang G C, Tseng C K. Method for large-scale isolation and purification of R-phycoerythrin from red alga. *Polysiphonia urceolata* Grev[J]. Protein Expression and Purification, 2006, 49(1): 23-31.
[11] Sun L, Wang S M. A phycoerythrin-allophycoerythrin complex from the intact phycobilisomes of the marine red alga *Polysiphonia urceolata*[J]. Photosynthetica, 2000, 38(4): 601-605.
[12] Chang W R, Jiang T, Wan Z L, et al. Crystal structure of R-phycoerythrin from *Polysiphonia urceolata* at 2.8 Å resolution[J]. Journal of Molecular Biology, 1996, 262(5): 721-731.
[13] Jiang T, Zhang J P, Liang D C. Structure and function of chromophores in R-phycoerythrin at 1.9 Å resolution[J]. Proteins: Structure, Function, and Genetics, 1999, 34(2): 224-231.
[14] Jiang T, Zhang J P, Liang D C, et al. Crystal structure of R-phycoerythrin and possible energy transfer pathways in the phycobilisome [J]. Biophysical Journal, 2001, 81(2): 1171-1179.
[15] Yu L H, Zeng F J, Zhou B C. Subunit composition and chromophore content of R-phycoerythrin from the red alga *Polysiphonia urceolata* Grev[J]. Acta Biochimica et Biophysica Sinica, 1991, 23: 127-133.
[16] Liu L N, Su H N, Yan S G, et al. Probing the pH sensitivity of R-phycoerythrin: Investigations of active conformational and functional variation[J]. Biochimica et Biophysica Acta, 2009, 1787(7): 939-946.

(责任编辑 吴晓丽)