

曼氏无针乌贼缠卵腺抗菌糖蛋白提取工艺优化

陈淑敏, 张玉琦, 龚芳芳, 王 晔, 刘英丹, 孟天宇, 娄永江*, 李勇勇*

宁波大学食品与药学院, 宁波 315211

摘要:为优化曼氏无针乌贼缠卵腺抗菌糖蛋白的提取工艺,探索糖蛋白的抗菌活性。本研究在单因素试验基础上,通过响应面试验对糖蛋白的提取工艺进行优化,同时对粗糖蛋白采用阴离子交换柱(DEAE-52)层析进行分离纯化,并进行电泳鉴定。结果表明,糖蛋白的提取优化参数为:NaOH浓度为0.43 mol/L、提取时间2.8 h、提取温度27℃,液料比30:1,在此条件下,得出抗菌粗糖蛋白实际得率为 $8.31\% \pm 0.18\%$ 。粗糖蛋白经阴离子交换柱(DEAE-52)层析有效分离获得组分2和组分3等2个糖蛋白组分,经SDS-PAGE电泳表明2个糖蛋白中的活性蛋白成分均为单一蛋白。结果同时表明,组分2与组分3对大肠杆菌与金黄色葡萄球菌具有非常显著的抑菌效果($P < 0.01$),且抗菌活性远强于同浓度山梨酸钾($P < 0.01$)。本研究可为曼氏无针乌贼缠卵腺糖蛋白在生物防腐剂方面的开发利用提供理论基础。

关键词:曼氏无针乌贼;缠卵腺;糖蛋白;抗菌活性

中图分类号:R284.2

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2019)10-1799-08

DOI:10.16333/j.1001-6880.2019.10.019

Optimization of the extraction technology of antibacterial glycoproteins from the nidamental gland of *Sepiella maindroni*

CHEN Shu-min, ZHANG Yu-qi, GONG Fang-fang,

WANG Ye, LIU Ying-dan, MENG Tian-yu, LOU Yong-jiang*, LI Yong-yong*

College of food and medicine, Ningbo University, Ningbo 315211, China

Abstract: To optimize the extraction condition for the antibacterial glycoproteins from the nidamental gland of the *Sepiella maindroni* and explore the antibacterial activity of the glycoproteins, this paper optimized the extraction process of glycoprotein by response surface test on the basis of single factor test. At the same time, the crude glycoprotein was separated and purified by DEAE-52 Cellulose ion exchange column chromatography and identified by electrophoresis. The results showed that the optimized parameters were 0.43 mol/L of NaOH, extraction times of 2.8 h, extraction temperature of 27℃, and liquid to material ratio was 30:1. In this condition, the actual antibacterial crude glycoprotein yield was $8.31\% \pm 0.18\%$. Two glycoprotein components, component 2 and component 3, were efficiently separated by DEAE-52 Cellulose ion exchange column chromatography. The SDS-PAGE electrophoresis showed that the active protein components of the two glycoproteins were single proteins. The results also showed that component 2 and component 3 had very significant antibacterial effect against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* ($P < 0.01$), and the antibacterial activity was much stronger than the same concentration of potassium sorbate ($P < 0.01$). This study can provide a theoretical basis for the development and utilization of glycoproteins from nidamental gland of the *Sepiella maindroni* in biological preservatives.

Key words: *Sepiella maindroni*; nidamental gland; glycoproteins; antibacterial activity

曼氏无针乌贼缠卵腺位于墨囊两侧,俗称“乌贼蛋”、“墨斗卵”、“目蛋”,不仅被视为海味珍品,具有补肾填精、开胃利水之功效,而且含有丰富的糖蛋

白^[1]。糖蛋白是一类由糖类同蛋白质或多肽共价连接而成的结合蛋白。近年来,天然糖蛋白由于具有多种生物活性被广泛应用于食品科学、药学、生物工程学等领域。目前,糖蛋白的研究多集中在植物和菌类糖蛋白方面,随着海洋生物研究的深入,海洋动物及其加工副产物(缠卵腺、内脏、精巢)中糖蛋

收稿日期:2019-03-27 接受日期:2019-09-24

基金项目:国家海洋经济示范项目(NBHY-2017-S2)

*通信作者 E-mail:louyongjiang@nbu.edu.cn,liyongyong@nbu.edu.cn

白的生物活性引起了人们的广泛关注。研究表明,从海蜇^[2]、蛤蚧^[3]、大鲵粘液^[4]、海马^[5]、牡蛎^[6,7]、扇贝^[8,9]、鲑鱼内脏^[10]、和鲑鱼缠卵腺^[11]等中提取的糖蛋白具有显著的抗氧化、抗肿瘤、抗疲劳、调节免疫力等生物活性。此外,研究发现从海兔的卵中分离纯化出的糖蛋白具有抗菌活性^[12]。但是对乌贼糖蛋白及其生物活性研究甚少,特别是对其抗菌活性方面尚未有研究。

本文采用碱法提取,优化了抗菌糖蛋白的提取工艺,同时采用阴离子交换柱(DEAE-52)对糖蛋白进行分离纯化。考察了其对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌的抗菌活性,并与常见防腐剂山梨酸钾的抗菌活性作比较,为乌贼缠卵腺糖蛋白防腐保鲜方面的运用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料与仪器设备

原料:东海捕捞曼氏无针乌贼,冰水中解剖取其缠卵腺,清洗,除去外层薄膜后分装,迅速冻藏于-80℃,保存备用。

菌种:金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、大肠杆菌(*Escherichia coli*)均购于中国工业微生物菌种保藏管理中心。

试剂:氢氧化钠、无水乙醇、氯化钠、山梨酸钾、葡萄糖、苯酚、牛血清蛋白、PBS、DEAE-52、浓硫酸等,均为分析纯。

主要仪器设备:台式高速冷冻离心机,德国 Thermo Scientific 公司;冷冻干燥机,美国 Labconco 公司;UV-1800APC 双光束紫外/可见分光光度计,上海美析仪器有限公司;旋转蒸发器 RE-52A,上海亚荣生化仪器厂;XHF-D 型内切式匀浆机,宁波新芝生物科技股份有限公司;苏州净化双人单面净化工作台 SW-CJ-2FD;DYY-6D 型电泳仪电源,北京六一生物科技有限公司;超声波清洗机,南京赛飞生物科技有限公司;电热恒温培养箱,宁波海曙赛福实验仪器厂。

1.2 糖蛋白提取工艺

1.2.1 提取工艺流程

准确称取 1 g 曼氏无针乌贼缠卵腺,去除外层薄膜,洗净,剪碎,分别加入一定量的 NaOH 溶液 8 000 rpm 匀浆 1 min,在不同的温度,时间条件下超声辅助提取,9 000 rpm 离心 10 min,取上清液,加入无水乙醇使其在溶液中的浓度为 50%,除出淀粉等杂质,离心取上清液,再加入无水乙醇使其在溶液中

的浓度为 75%,醇沉 4 h,放入透析袋中透析 48 h,冷冻干燥得糖蛋白粗品。

1.2.2 单因素试验

以粗糖蛋白得率为指标,准确称取 1 g 曼氏无针乌贼缠卵腺,分别加入浓度为 0.2、0.4、0.6、0.8、1 mol/L 的 NaOH 溶液,8 000 rpm 匀浆 1 min,在恒定条件(超声温度 25℃,超声时间为 2.5 h,超声功率为 200 W,液料比为 30:1)下超声辅助提取,考察不同浓度的 NaOH 溶液对糖蛋白得率的影响;根据上述方法固定其他因素,分别选择提取温度(4、15、25、35、45℃)、时间(0.5、1.5、2.5、3.5、4.5 h)、液料比(10:1、20:1、30:1、40:1、50:1)依次设计单因素试验,以考察不同因素对糖蛋白得率的影响,获得超声辅助提取糖蛋白的优化工艺条件。

1.2.3 响应面优化试验

根据单因素试验结果,选取 NaOH 浓度、超声温度、超声时间三个因素对其进行优化试验。利用 Design Expert. 8.0.5 软件处理数据,采用 Box-Behnken 进行响应面设计,对实验结果进行回归拟合分析

1.2.4 糖蛋白分离纯化

以 DEAE-52 纤维素作为柱填料,将粗糖蛋白样品溶解在缓冲液中(pH 7.4 的 PBS),微膜(孔径 0.22 μm)过滤后上样,用 0.5、1 mol/L NaCl 溶液作为洗脱溶剂,洗脱速度为 1 mL/min,每 3 min 记录洗脱液在 280 和 490 nm(苯酚-硫酸比色法^[13])的吸光度,并记录。

1.3 抗菌活性的测定

1.3.1 菌悬液制备

在超净工作台中,将金黄色葡萄球菌和大肠杆菌接种到 LB 琼脂斜面上,置于 37℃ 培养箱中培养 24 h,得到活化的菌落,取适量菌落放于盛有无菌生理盐水的试管中,将菌悬液的浓度控制在 $10^7 \sim 10^8$ CFU/mL,制备好的细菌悬浮液密封,4℃ 冰箱保存备用。

1.3.2 含菌平板制备

无菌环境下,将灭菌后的 LB 琼脂培养基放置至温度约为 50℃,倒入无菌的培养皿内,待平板内琼脂凝固后,取各供试菌悬液 100 μL 涂布均匀,制成含菌平板。

1.3.3 抑菌效果及最小抑菌浓度测定

1.3.3.1 抑菌效果测定

采用牛津杯法,将灭菌后的牛津杯(内径直径为 6 mm)用无菌镊子取出放在含菌平板上,分别在

每个牛津杯中加入 100 μL 纯化后的糖蛋白溶液,无菌水作对照,做好标记,置于恒温培养箱中(37 $^{\circ}\text{C}$)中培养 24 h,做三个重复试验。用电子游标卡尺测量抑菌圈直径。结果取各次测定的平均值。

1.3.3.2 最小抑菌浓度测定

对纯化后有抑菌活性的组分进行最小抑菌浓度测定,用无菌镊子取出牛津杯,放在无菌平板上,将质量浓度为 10、20、30、40、50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的糖蛋白溶液 100 μL 加入牛津杯里,设置三个平行实验,同时做空白对照。在恒温培养箱中(37 $^{\circ}\text{C}$)中培养 24 h,用电子游标卡尺测量抑菌圈直径。

1.4 SDS-PAGE 电泳鉴定

参照徐伟良^[14]的方法适当调整,分离胶、浓缩胶浓度选用 12% 和 5%, 15 μL 上样,起始电压 80 V,待样品跑过浓缩胶后调到 120 V 至样品电泳到胶底部为止。用考马斯亮蓝蛋白快速染色液染色,脱色后观察电泳条带。

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果分析

2.1.1 NaOH 浓度对糖蛋白得率的影响

由图 1 可知,NaOH 浓度对糖蛋白的得率是有影响的。当 NaOH 浓度较低时,糖蛋白富集程度较低,得率较低。浓度较高时,高浓度的碱破坏了糖蛋白结构,导致糖链断裂^[15],另外,高浓度的碱可使蛋白质降解变质^[16],从而使糖蛋白得率下降。

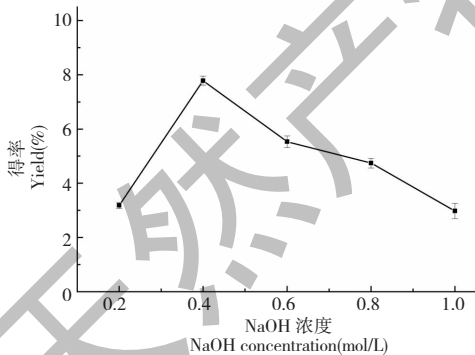


图 1 NaOH 浓度对糖蛋白得率的影响

Fig. 1 Effect of NaOH concentration on the extraction yield of glycoprotein

2.1.2 提取温度对糖蛋白得率的影响

由图 2 可知,提取温度对糖蛋白的得率是有影响的。温度较低时,糖蛋白溶出率不高,得率较低,温度较高时,会导致糖和蛋白的结合断裂并破坏蛋白结构^[15],从而使糖蛋白得率下降。

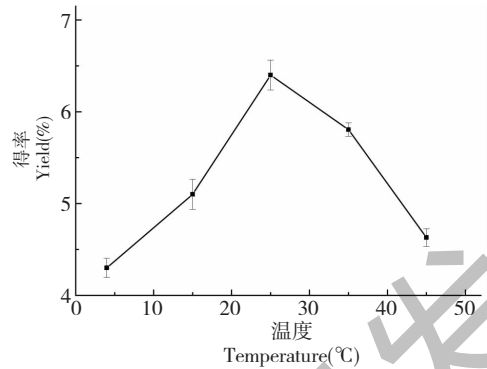


图 2 提取温度对糖蛋白得率的影响

Fig. 2 Effect of extraction temperature on the extraction yield of glycoprotein

2.1.3 提取时间对糖蛋白得率的影响

由图 3 可知,提取时间对糖蛋白的得率是有影响的,提取时间较短时,糖蛋白无法达到充分富集的效果^[17],提取时间过长会引起目标糖蛋白糖苷键断裂,导致其降解。从而导致糖蛋白得率下降。

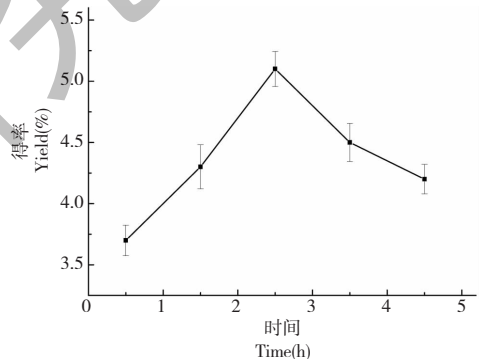


图 3 提取时间对糖蛋白得率的影响

Fig. 3 Effect of different time on the extraction yield of glycoprotein

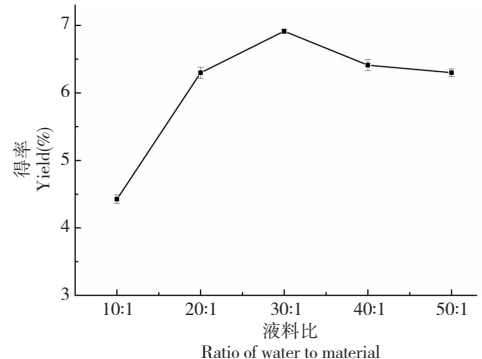


图 4 液料比对糖蛋白得率的影响

Fig. 4 Effect of ratio of water/material on the extraction yield of glycoprotein

2.1.4 液料比对糖蛋白得率的影响

由图4可知,液料比较低时,浸提液中NaOH含量相对较低,使得糖蛋白无法充分富集^[15]。液料比较高时,糖蛋白得率无明显变化,并且浸提液过多时,糖蛋白不易收集。综合考虑,不对液料比进行响应面优化研究。

2.2 响应面试验结果与分析

2.2.1 响应面分析方案及试验结果

根据单因素试验结果,响应面试验因素水平及编码如表1所示,响应面试验结果如表2所示。

表1 响应面试验设计因素水平表

Table 1 Factors and levels of response surface experiment

水平 Level	因素 Factor		
	A NaOH 浓度 NaOH concentration	B 提取温度 Extraction temperature	C 提取时间 Extraction time
	(mol/L)	(°C)	(h)
-1	0.2	15	1.5
0	0.4	25	2.5
1	0.6	35	3.5

2.2.2 二次回归模型拟合及方差分析

利用 Design Expert. 8 软件对表2 试验数据进行回归分析,获得回归模型方差分析及显著性结果如

表3所示。

表2 响应面试验结果

Table 2 Experimental design and results of response surface method

序号 No.	A	B	C	得率 Yield (%)
1	-1.000	0.000	1.000	7.046
2	-1.000	-1.000	0.000	5.628
3	0.000	0.000	0.000	8.651
4	1.000	0.000	-1.000	6.876
5	1.000	-1.000	0.000	5.944
6	0.000	0.000	0.000	8.02
7	-1.000	1.000	0.000	7.073
8	1.000	1.000	0.000	6.804
9	0.000	-1.000	-1.000	5.578
10	0.000	1.000	1.000	7.073
11	0.000	0.000	0.000	8.693
12	0.000	-1.000	1.000	6.697
13	0.000	0.000	0.000	7.786
14	0.000	1.000	-1.000	7.313
15	-1.000	0.000	-1.000	6.238
16	1.000	0.000	1.000	8.062
17	0.000	0.000	0.000	8.379

表3 回归模型方差分析及显著性结果

Table 3 Analysis of variance and significance in regression model

来源 Source	平方和 Sum of square	自由度 df	均方 Mean square	F 值 F value	P 值 P value	显著性 Significance
模型	14.55	9	1.62	10.20	0.0029	**
A	0.36	1	0.36	2.28	0.1746	
B	2.44	1	2.44	15.38	0.0057	**
C	1.03	1	1.03	6.51	0.0380	*
AB	0.086	1	0.086	0.54	0.4863	
AC	0.036	1	0.036	0.23	0.6494	
BC	0.46	1	0.46	2.91	0.1316	
A2	2.54	1	2.54	16.03	0.0052	**
B2	5.73	1	5.73	36.18	0.0005	**
C2	0.94	1	0.94	5.96	0.0447	*
残差 Residual	1.11	7	0.16			
失拟项 Lack of fit	0.48	3	0.16	1.03	0.4694	
纯误差 Pure error	0.63	4	0.16			
总和 Cor total	15.65	16				

注: ** 差异高度显著(0.0001 < P < 0.01); * 差异显著(P < 0.05)。

Note: ** indicates extremely significant difference; * indicates significant difference.

利用 Design Expert. 8 软件进行多元回归拟合, 得到二次多项回归方程为: $Y = 8.31 + 0.21 \times A + 0.55 \times B + 0.36 \times C - 0.15 \times A \times B + 0.094 \times A \times C - 0.34 \times B \times C - 0.78A^2 - 1.17B^2 - 0.47C^2$, 由方差分析可

以看出: 模型 $P < 0.01$, 表明该回归模型高度显著; 失拟项 $P > 0.05$, 说明该模型拟合度好。各交互作用对糖蛋白得率的影响结果如图 5 所示。

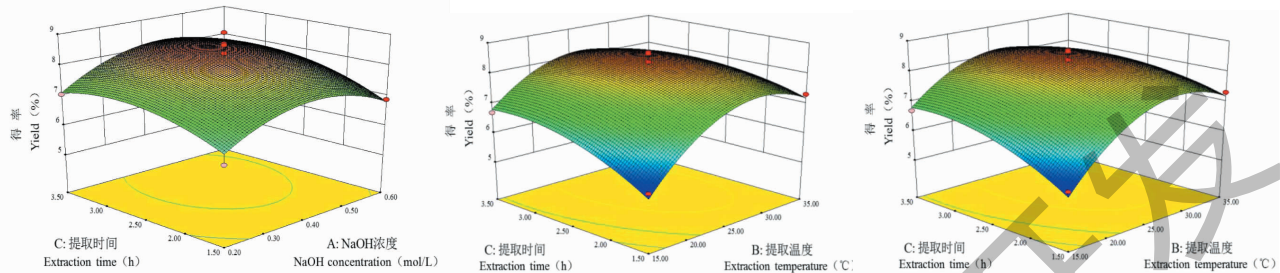


图 5 各交互作用对糖蛋白得率影响的响应面图

Fig. 5 Response surfaces graphs showing the extraction yield of glycoprotein between the various factors and interaction effect

2.2.3 响应面分析与最优条件的确定

经过优化后, 得到的最佳提取工艺参数为 NaOH 浓度为 0.43 mol/L, 提取时间 2.83 h、提取温度 26.8 °C。此时糖蛋白得率预测值为 8.42%。为方便实际操作, 修正工艺参数 NaOH 浓度为 0.43 mol/L、提取时间 2.8 h、提取温度 27 °C。经过三次重复性实验验证, 糖蛋白实际得率为 8.31% ± 0.18%, 与实验预测值误差仅为 0.12%。章建设等^[10]采用盐溶液浸提法提取鱿鱼内脏中的糖蛋白, 最高得率仅为 2.24%。说明碱法提取糖蛋白效果

较好。

2.3 糖蛋白 DEAE-52 柱层析结果

经碱法提取出的糖蛋白粗品是糖和蛋白的复合物, 为分析哪一部分具有抗菌活性, 对糖蛋白粗品进行分离纯化。如图 6 所示, 将冻干的糖蛋白粗品经 DEAE-52 离子交换层析柱层析, 用 0.5、1 mol/L 的 NaCl 溶液洗脱分别检测蛋白和糖的含量, 得出流出曲线。经层析柱分离, 每隔 3 min 收集流出液, 在吸光度为 280 和 490 nm 处检测糖蛋白含量, 发现有三个组分(两组重叠峰), 进行抗菌试验。

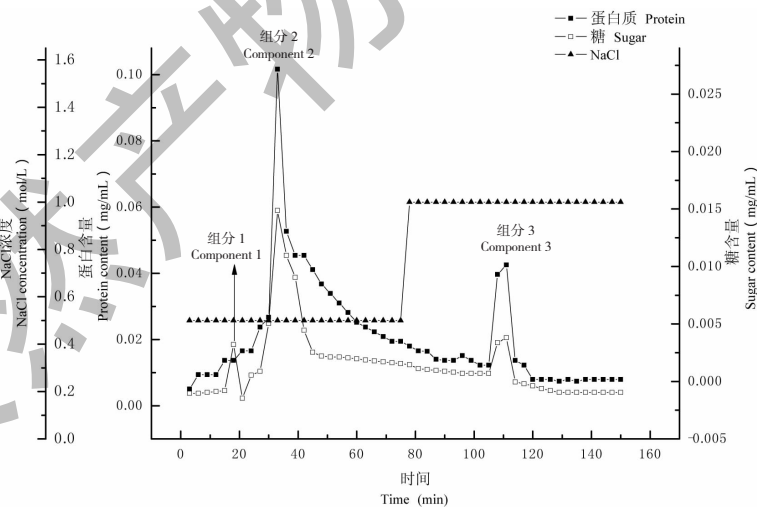


图 6 DEAE-52 柱层析分离图谱

Fig. 6 DEAE-52 column chromatography separation map

2.4 糖蛋白抑菌活性及最小抑菌浓度结果分析

对分离得到的三个组分与山梨酸钾进行抑菌效果比较, 由图 7 可知, 组分 1 对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌几乎没有抑菌作用, 组分 2 与组分 3 的抑菌

效果明显要强于同浓度山梨酸钾的抑菌效果 ($P < 0.01$), 测定组分 2 与组分 3 对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的最小抑菌浓度, 从表 4 中可以看出, 两组分对大肠杆菌的最小抑菌浓度为 20 $\mu\text{g/mL}$, 对金黄色

葡萄球菌的最小抑菌浓度为 30 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

研究发现,大多数糖蛋白都具有抑菌活性,单媛媛^[18]等从鸡蛋蛋清中发现一种糖蛋白对大肠杆菌具有显著的抑菌效果,最小抑菌浓度达 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$, Ebran 等^[19]从鱼类表皮黏液中发现的糖蛋白对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌也具有显著的抑菌效果。测定其对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的最小抑菌浓度分别为 100、50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。最小抑菌浓度值越小,说明抑菌效果越好,本实验中的两组分浓度在 30 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 左右时就表现出了显著的抑菌活性,表明曼氏无针乌贼缠卵腺糖蛋白抗菌活性较强,具有广谱的抑菌性,可见曼氏无针乌贼缠卵腺糖蛋白可作为动物源

生物防腐剂代替化学防腐剂,在生物防腐方面具有较强的开发价值。

山梨酸钾主要是通过抑制微生物体内的脱氢酶系统,从而抑制微生物生长。对比发现,曼氏无针乌贼缠卵腺糖蛋白相比山梨酸钾具有更强的抑菌性,一方面可能是曼氏无针乌贼缠卵腺糖蛋白对微生物体内的脱氢酶系统抑制性更强,另一方面可能是糖蛋白能识别细菌细胞壁表面上的糖链和肽聚糖,从而导致细胞壁破壁,改变其通透性。此外,糖蛋白有可能抑制了细菌的核酸合成,使其新陈代谢受到干扰,从而达到抑菌效果^[12,20]。

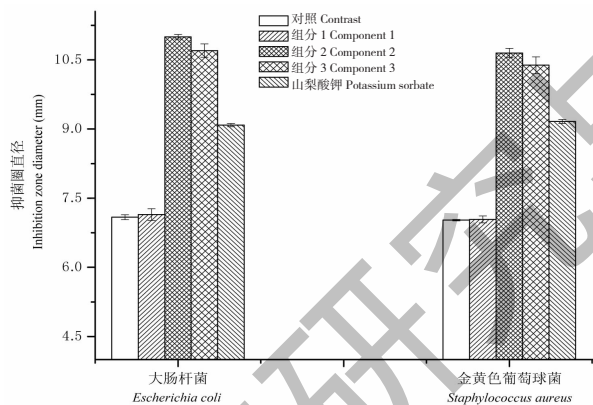


图7 糖蛋白各组分与山梨酸钾对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌的抑菌效果比较

Fig. 7 Comparison of the antibacterial effect of glycoprotein components and potassium sorbate on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*

表4 糖蛋白各组分对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的最小抑菌浓度测定结果

Table 4 The minimum inhibitory concentration results of glycoprotein components on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*

组分 Component	浓度 Concentration ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	抑菌圈直径 Inhibition zone diameter (mm)	
		大肠杆菌 <i>Escherichia coli</i>	金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>
对照 Contrast	0	-	-
组分2 Component 2	10	-	-
	20	8.99 \pm 0.04	-
	30	9.21 \pm 0.02	8.94 \pm 0.04
	40	10.07 \pm 0.04	9.37 \pm 0.06
	50	11.48 \pm 0.05	10.71 \pm 0.01
组分3 Component 3	10	-	-
	20	8.72 \pm 0.03	-
	30	9.19 \pm 0.06	8.78 \pm 0.03
	40	10.05 \pm 0.04	9.22 \pm 0.05
	50	11.23 \pm 0.02	10.39 \pm 0.02

注:“-”表示无抑菌圈产生。

Note:“-” Indicates no inhibition zone diameter.

2.5 SDS-PAGE 电泳结果

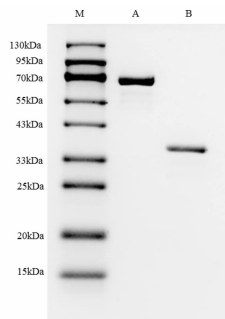


图 8 SDS-PAGE 电泳图

Fig. 8 SDS-PAGE Electrophoresis

注: M: 蛋白 Marker; A: 组分 2; B: 组分 3。Note: M: Protein Marker; A: component 2; B: component 3.

由图 8 可见, 组分 2 与组分 3 经 SDS-PAGE 后得到单一条带, 根据条带显示组分 2 中的活性蛋白分子量约为 70 kDa, 组分 3 的活性蛋白分子量约为 33 kDa, 初步证明组分 2 与组分 3 中的活性蛋白成分是由一种蛋白构成。

3 结论

本试验在单因素的试验基础上, 利用响应面分析法优化了超声辅助提取抗菌糖蛋白的工艺条件。得出最佳工艺条件为: NaOH 浓度为 0.43 mol/L, 提取时间 2.8 h, 提取温度 27 °C, 液料比 30:1, 经过三次重复性实验验证, 糖蛋白实际得率为 8.31% ± 0.18%, 与实验预测值接近, 说明该模型对优化曼氏无针乌贼缠卵腺抗菌糖蛋白提取工艺具有可行性。对最优工艺下的提取物经 DEAE-52 离子交换柱层析分离纯化获得 3 个组分。除组分 1 外, 组分 2 与组分 3 对大肠杆菌与金黄色葡萄球菌具有显著的抑菌效果 ($P < 0.01$), 且其中的活性蛋白成分是一种蛋白构成。组分 2 与组分 3 的抑菌效果明显要强于山梨酸钾 ($P < 0.01$), 可见糖蛋白对革兰氏阴性菌和革兰氏阳性菌有强烈的抑菌作用, 具有广谱性。因此曼氏无针乌贼缠卵腺糖蛋白可作为一种生物防腐剂, 在生物防腐的开发上有很强的商业价值。

参考文献

- Liu CL, Ge JL, Chen SQ, et al. Analysis and evaluation of nutritional composition of the nidamental gland of wild *Sepia esculenta* [J]. Acta Nutri Sin (营养学报), 2018, 40:106-108.
- Ren GY, Li BF, Zhao X, et al. Ultrasound-assisted extraction technology for the extraction of glycoprotein from jellyfish (*Rhopilema esculentum*) oral-arms [J]. Trans Chin Soc Agric

- Eng (农业工程学报), 2008, 24:255-259.
- Yu D, Yang YF, Wang JB, et al. Study of glycoprotein extracted and purified from *Ruditapes philippinarum* inhibits the growth of tumor cell in vitro [J]. J Zhejiang Ocean Univ; Nat Sci (浙江海洋学院学报: 自科版), 2011, 30:336-339.
- Zhang JY, Liu H, Sun HQ, et al. Extraction and purification of glycoprotein from *Giant salamander's mucus* and its antioxidant properties [J]. J Chin Inst Food Sci Tech (中国食品学报), 2018, 18:181-187.
- Xu YJ, Su YT, Ge XM, et al. Purification and characterization of antioxidant glycoproteins from the yellow seahorse *Hippocampus kuda* Bleeker [J]. Chin J Mar Drug (中国海洋药物), 2017, 36(6):39-46.
- Huang LZ, Zhong M, Hu XQ, et al. Anti-Oxidant activities in vitro of glycoprotein from *Crassostrea Rivularis* Crould by different extraction methods [J]. J Guangdong Ocean Univ (广东海洋大学学报), 2011, 31(3):95-98.
- Feng XM, Han YQ, Zhao ZQ, et al. Isolation, purification and characterization of glycoprotein from Oyster [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2008, 20:709-712.
- Gu QQ, Fang YC, Xin XL, et al. Tumor suppressive activity and effect on immune function of *Chlamys farreri* [J]. Acta Nutri Sin (营养学报), 2001, 23:200-202.
- Mallya S K, Partin J S, Valdizan M C, et al. Proteolysis of the major yolk glycoproteins is regulated by acidification of the yolk platelets in sea urchin embryos [J]. J Cell Biol, 1992, 117:1211-1221.
- Zhang JS, Lei XL. Extraction of glycoprotein from squid viscera and its immunomodulation [J]. Mod Food Sci & Technol (现代食品科技), 2008, 24:167-169.
- Liu SJ, Wang Q, Wang Y, et al. Salmon stalk glandular glycoprotein MGS hypolipidemic and non-specific immune function research [J]. J Fisheries Res (渔业研究), 2014, 6:436-441.
- Kisugi J, Ohye H, Kamiya H, et al. Biopolymers from marine invertebrates. X. Mode of action of an antibacterial glycoprotein, aplysianin E, from eggs of a sea hare, *Aplysia kurodai* [J]. Chem & Pharmaceut Bull, 1989, 37:3050-3053.
- Jiang B, Wang YY, Liu CJ, et al. Extraction, purification and content determination of polysaccharide in Gingko Leaves [J]. Lishizhen Med Mater Med Res (时珍国医国药), 2007, 18:2729-2731.
- Xu WL. Anti-cancer activity of the purified extract glycoprotein with salamander skin mucus [D]. Hanzhong: Shanxi Institute of Technology (陕西理工学院), 2015.
- Jiao QC. Introduction to Sugar Engineering (糖工程概论) [M]. Beijing: Science Press, 2010.

- 16 Wen J, Xie XA, Li Y, et al. Technology and antioxidant activity of tea-residue protein using microwave-assisted alkaline extraction[J]. *J Cereals & Oils* (粮食与油脂), 2017, 30(5):41-44.
- 17 Wang Q. Studied on extraction and bioactivity analysis of mucin from nidamental gland of *Todarodes pacificus* [D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University (福建农林大学), 2013.
- 18 Fu D. Studies on antibacterial activity and antibacterial mechanism of ovomucin [D]. Wuhan: Huazhong Agriculture University (华中农业大学), 2015.
- 19 Ebran N, Julien S, Orange N, et al. Pore-forming properties and antibacterial activity of proteins extracted from epidermal mucus of fish[J]. *Comp Biochem & Physiol A Mol & Integr Physiol*, 1999, 122:181-189.
- 20 Shi XD. Purification, characterization, immunoassay and function study of vitellogenin and lipovitellin from rosy barb [D]. Qingdao: Ocean University of China (中国海洋大学), 2004.

《天然产物研究与开发》青年编委会

青年编委 (以姓氏笔划为序)

Members

王红兵	戈惠明	尹文兵	尹 胜	吕兆林	刘相国
WANG Hongbing	GE Huiming	YIN Wenbing	YIN Sheng	LV Zhaolin	LIU Xiangguo
孙昊鹏	孙桂波	李良成	李国友	邱 莉	汪海波
SUN Haopeng	SUN Guibo	LI Liangcheng	LI Guoyou	QIU Li	WANG Haibo
沐万孟	张炳火	陈益华	林昌俊	欧阳杰	易华西
MU Wanmeng	ZHANG Binghuo	CHEN Yihua	LIN Changjun	OU Yangjie	YI Huaxi
罗应刚	周 文	胡友财	袁 涛	夏永刚	高慧敏
LUO Yinggang	ZHOU Wen	HU Youcai	YUAN Tao	XIA Yonggang	GAO Huimin
唐金山	黄胜雄	韩秀珍	韩淑燕	曾克武	蓝蔚青
TANG Jinshan	HUANG Shengxiong	HAN Xiuzhen	HAN Shuyan	ZENG Kewu	LAN Weiqing
廖晨钟	薛永波				
LIAO Chenzhong	XUE Yongbo				