

研究快报

乌骨鸡皮肤酪氨酸酶的荧光特性研究*

阮康成 王洪涛** 刘望夷

(中国科学院上海生物化学研究所, 上海 200031)

关键词 酪氨酸酶, 荧光光谱学

酪氨酸酶是生物体合成黑素的关键酶, 广泛存在于动植物及人体黑素细胞中。我们曾用一步柱层析方法纯化了乌骨鸡皮肤酪氨酸酶^[1]。本文报道用荧光光谱学研究乌骨鸡酪氨酸酶物化性质的一些实验结果。

酪氨酸酶在聚丙烯酰胺凝胶上仅呈一条带。

乌骨鸡酪氨酸酶和许多既含色氨酸又含酪氨酸残基的 B 类蛋白质不一样, 用 280nm 波长的光激发, 可同时观察到酪氨酸和色氨酸的荧光, 其中色氨酸的最大发射波长在 331nm, 酪氨酸荧光产生的肩峰在 310nm, 而 295nm 激发产生的荧光谱有明显的红移(8nm)。更有意义的是此条件下在 405nm 处出现一荧光峰(峰值为 337nm 处的 3/4 左右, 图 1)。用 280 nm 的光激发时经仔细分析亦可观察到在 405 nm

处很小的一个肩峰, 这意味着该酪氨酸酶分子中可能存在另外一个荧光发色团。上述 295nm 激发时荧光发射谱的红移可能与该荧光发色团的贡献有关。

荧光特性的研究还表明, 这种酪氨酸酶可与荧光探针 1-anilinonaphthalene-8-sulfonic acid (ANS) 结合并使其荧光量子产率增加近 150 倍, 且伴有近 50nm 的荧光谱蓝移, 表明酪氨酸酶分子中有疏水区存在^[2]。有趣的是 ANS 的双体 Bis-ANS 与酪氨酸酶的结合要比 ANS 弱得多, 荧光谱的蓝移和量子产率的增加明显地小于 ANS 的, 而在以往报道中, Bis-ANS

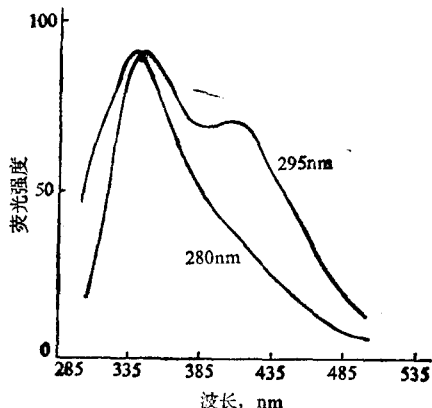


图 1 酪氨酸酶的荧光发射谱

酶浓度: 1 μ mol/L 缓冲液: 0.05mol/L Tris-Cl, pH7.5

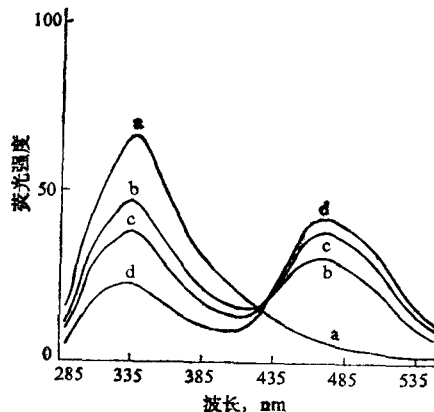


图 2 酪氨酸酶中的色氨酸残基与结合的 ANS 之间的能量传递

酶浓度: 2 μ mol/L ANS 浓度: a. 0; b. 0.5 μ mol/L; c. 1 μ mol/L; d. 4 μ mol/L

* 国家自然科学基金资助项目

** 河南大学生物系进修教师

收稿日期: 1992-07-27

的亲合力多大于 ANS^[3]。这是否与酪氨酸酶分子中疏水区的空间较小而只允许 ANS 进入有关,还有待进一步研究。在 ANS 滴定实验中发现,随着 ANS 的加入,酪氨酸酶中的色氨酸荧光逐渐下降,而在 465nm 处出现 ANS 的荧光峰(图 2)。这意味着酶分子中的色氨酸残基和结合的 ANS 可发生能量传递,利用这一能量传递引起的荧光淬灭,按 Stern-Volmer 方法推知 ANS 在酪氨酸酶分子上有两个结合区。与此一致的是,用 phase-modulation 方

法测得结合在酪氨酸酶分子上的 ANS 有两种不同的激发态,其荧光寿命分别为 14.9 ns 和 0.6ns。这一现象也意味着酶分子中两个疏水区的疏水性有明显的不同。

参 考 文 献

- 1 王洪涛,刘望夷. 生物化学与生物物理进展, 1990; 17: 296
- 2 阮康成等. 生物化学与生物物理学报, 1984; 16: 25
- 3 阮康成. 生物物理学报, 1992; (印刷中)

《生物化学与生物物理进展》入选 1990—1991 年 “中国自然科学核心期刊”百名表

中国自然科学核心期刊研究课题组使用“引文法”对 1990, 1991 年中国出版的 20 种有代表性的学术期刊发表的学术论文所引用的各种中文自然科学期刊被引用量进行客观统计后得到 1990—1991 年中国自然科学核心期刊百名表,现公布如下:

- | | | | | | |
|------------------|---------------|------------------|------------------|------------------|----------------|
| 1 科学通报 | 2 中国科学 | 3 化学学报 | 4 物理学报 | 5 高等学校化学学报 | 6 植物学报 |
| 7 药学报 | 8 生物化学与生物物理学报 | 9 植物生理学报 | 10 分析化学 | 11 生理学报 | 12 遗传学报 |
| 13 化学通报 | 14 地质科学 | 15 气象学报 | 16 有机化学 | 17 动物学报 | 18 物理 |
| 19 地理学报 | 20 数学学报 | 21 大气科学 | 22 物理化学学报 | 23 中草药 | 24 植物生理学通讯 |
| 25 地质学报 | 26 中国药理学报 | 27 中华医学杂志 | 28 高分子学报 | 29 实验生物学报 | 30 生物化学与生物物理进展 |
| 31 地球化学 | 32 中国医学科学院学报 | 33 无机化学 | 34 岩石学报 | 35 南京大学学报(自然科学版) | 36 中国稀土学报 |
| 37 地质论评 | 38 光学学报 | 39 催化学报 | 40 应用化学 | 41 数学年刊 | 42 生物化学杂志 |
| 43 色谱 | 44 地球物理学报 | 45 化学试剂 | 46 石油化工 | 47 半导体学报 | 48 北京医科大学学报 |
| 49 吉林大学自然科学学报 | 50 古生物学报 | 51 作物学报 | 52 遗传 | 53 药物分析杂志 | 54 地球科学 |
| 55 武汉大学学报(自然科学版) | 56 高原气象 | 57 生理科学进展 | 58 地震地质 | 59 中华内科杂志 | 60 微生物学报 |
| 61 中国农业科学 | 62 金属学报 | 63 中华肿瘤杂志 | 64 沉积学报 | 65 生物工程学报 | 66 物理学进展 |
| 67 中山大学学报(自然科学版) | 68 海洋学报 | 69 动物学杂志 | 70 中国激光 | 71 气象 | 72 生物物理学报 |
| 73 化学物理学报 | 74 结构化学 | 75 冰川冻土 | 76 上海医科大学学报 | 77 云南植物研究 | 78 中华血液学杂志 |
| 79 兰州大学学报(自然科学版) | 80 自然杂志 | 81 地理科学 | 82 中国地质科学院院报 | 83 波谱学杂志 | 84 分析试验室 |
| 85 力学学报 | 86 分子科学与化学研究 | 87 厦门大学学报(自然科学版) | 88 海洋与湖泊 | 89 中国药科大学学报 | 90 动物学研究 |
| 91 地理研究 | 92 中国区域地质 | 93 中国药理学杂志 | 94 北京大学学报(自然科学版) | 95 中国科技大学学报 | 96 应用数学学报 |
| 97 古脊椎动物与古人类 | 98 两栖爬行动物学报 | 99 军事医学科学院院刊 | 100 解剖学报 | | |

目前我国出版 3000 多种科技期刊,核心期刊比例仅占 3.33%

【“中国自然科学核心期刊”研究课题组 徐瑞亚 北京 2709 信箱 100080】