

研究快报

一步法纯化乌骨鸡皮肤酪氨酸酶

王洪涛* 刘望夷

(中国科学院上海生物化学研究所,上海)

关键词: 酪氨酸酶,乌骨鸡

酪氨酸酶 (EC. 1.14.18.1) 是黑素细胞内形成黑色素一个关键的酶。它做为一个含铜酶广泛地存在于自然界中。酪氨酸酶既能催化 L-酪氨酸的羟化形成 L-多巴 (羟化酶的活性) 又能催化 L-多巴的氧化形成多巴醌 (氧化酶的活性)。多巴醌进一步自动氧化形成黑色素。

乌骨鸡 (*Gallina lanigera*) 是我国特产的一种药用鸡种。其皮肤及内脏中含有大量黑色素,呈深黑色。乌骨鸡的黑色素表现为伴性遗传。雄性乌骨鸡与雌性白来亨鸡杂交产生的子一代中母鸡的皮肤呈黑色 (与纯种乌骨鸡相同),而公鸡的皮肤则为白色 (与纯种白来亨鸡相同)。这种伴性遗传现象类似于白化疾病。同时说明,酪氨酸酶活性的表达与性染色体有关。弄清酪氨酸酶基因在杂交子一代中的表达机制有助于了解白化病的发病机制与基因治疗。另外,黑色素瘤的癌变与酪氨酸酶基因的表达也有密切关系。所以研究酪氨酸酶的基因及其表达的调控对了解和治疗白化病以及控制黑色素瘤的癌变都很重要。要进行这项研究,首先需要分离纯化酪氨酸酶。

我们用 4 mol/L 尿素溶液抽提乌骨鸡皮肤得酪氨酸酶粗制品,经过一个特制的 Cu²⁺-DEAE-纤维素层析柱纯化,一步得到了纯的酪氨酸酶,经 SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳硝酸银染色鉴定为一条带 (图 1),回收率在 40% 以上。酪氨酸酶活性的测定,参考 Nellaippan 和 Vinayagam 的方法^[1]进行。酪氨酸酶的最适反

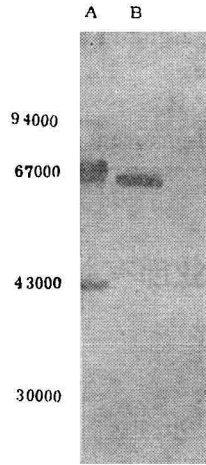


图 1 乌骨鸡皮肤酪氨酸酶 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳图

A: 标准蛋白质 B: 乌骨鸡皮肤酪氨酸酶

应温度为 35℃,以已知分子量的蛋白质为标准,酪氨酸酶的分子量大约为 66000,酪氨酸酶其它性质的测定工作正在进行之中。

文献中有关酪氨酸酶分离纯化的步骤繁多,回收率很低。本文报告一种一步法即可获得纯酪氨酸酶。乌骨鸡皮肤酪氨酸酶的纯化,文献中未见报道。

参 考 文 献

1 Nellaippan K, Vinayagam A. *Stain Technol*, 1986; 61:269

[本文于 1990 年 3 月 30 日收到]

* 河南大学生物学系进修教师。