

蓝圆鲈肝脏脂肪酶的分离纯化及性质分析

曾添, 张凌晶, 曹敏杰, 刘光明, 孙乐常*
(集美大学食品与生物工程学院, 福建 厦门 361021)

摘要

以蓝圆鲈肝脏为对象, 通过硫酸铵分级盐析、DEAE-Sepharose阴离子交换柱层析、Sephacryl S-200凝胶过滤柱层析、Q-HP强阴离子交换柱层析与Phenyl HP疏水柱层析纯化得到一种酯酶, 其分子量约为60kDa, 回收率为8.1%, 纯化倍数为643倍。肽指纹图谱结果显示, 鉴定肽段与罗非鱼假定乙酰脂硫酯酶原一致, 表明该酶为一种新型酯酶。酶学性质分析发现该酶的最适pH为9.0, 最适温度为50℃; SDS和金属离子 K^+ 、 Zn^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Al^{3+} 和 Fe^{2+} 会使脂肪酶活性显著下降, 而 Ba^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Mn^{2+} 和 Co^{2+} 则会促进脂肪酶的活性; 该酶在20mM Tris-HCl pH8.0缓冲液环境中偏向于水解中短碳链脂肪酸, 对12碳以上脂肪酸几乎无水解活性, 而在乳化体系中, 其水解长链脂肪酸的活性增加, 表明该酶是一种新型的多功能脂肪酶。

研究结果

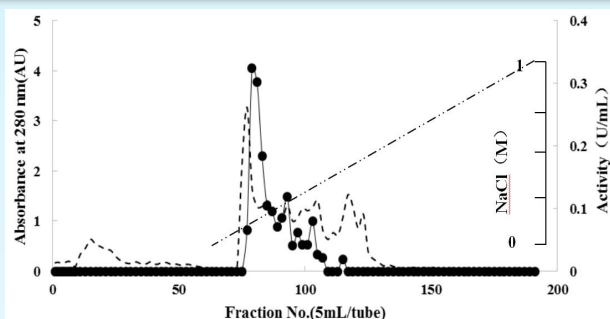


图1 DEAE-Sepharose阴离子交换柱. 280 nm 吸光值(---); 水解底物对硝基乙酸酯活性(—●—)

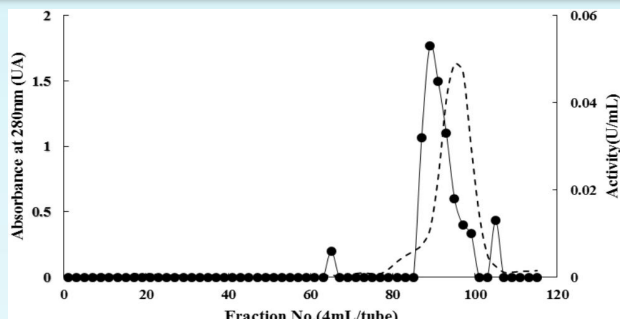


图2 Sephacryl S-200凝胶柱. 280 nm 吸光值(---); 水解底物对硝基乙酸酯活性(—●—)

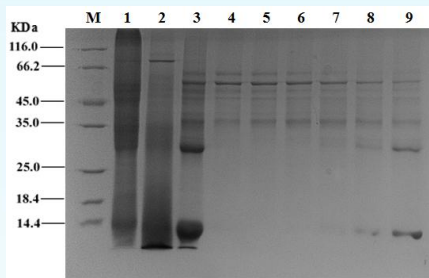


图3 Sephacryl S-200凝胶层析SDS-PAGE(12%)电泳图

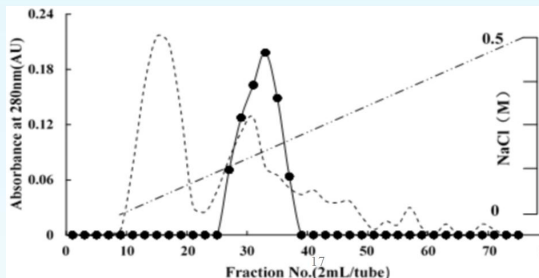


图4 Q-HP强阴离子交换柱. 280 nm 吸光值(---); 水解底物对硝基乙酸酯活性(—●—)

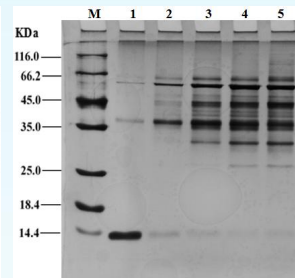


图5 Q-HP层析SDS-PAGE(12%)电泳图

结论

本研究从蓝圆鲈肝脏中成功纯化出一种新型酯酶, 发现最适pH为9.0, 最适温度为50℃, SDS和金属离子 K^+ 、 Zn^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Al^{3+} 和 Fe^{2+} 会使脂肪酶活性显著下降, 而 Ba^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Mn^{2+} 和 Co^{2+} 则会促进脂肪酶的活性, 且通过测定其对不同碳链长度的脂肪酸进行水解, 发现该酶对短链酸的水解特异性高。