

大黄鱼不同组织中酸溶性胶原蛋白的分离与表征

杜瀚^a, 孙乐常^{a,b}, 曹敏杰^{a,b*}

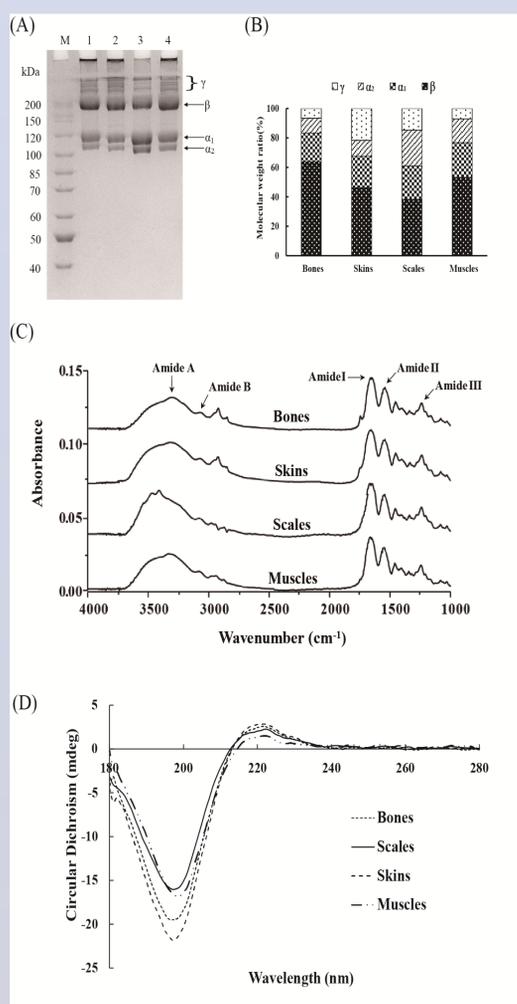
^a集美大学, 食品与生物工程学院, 厦门 361021;

^b水产品深加工技术国家地方联合工程研究中心, 集美大学, 厦门 361021

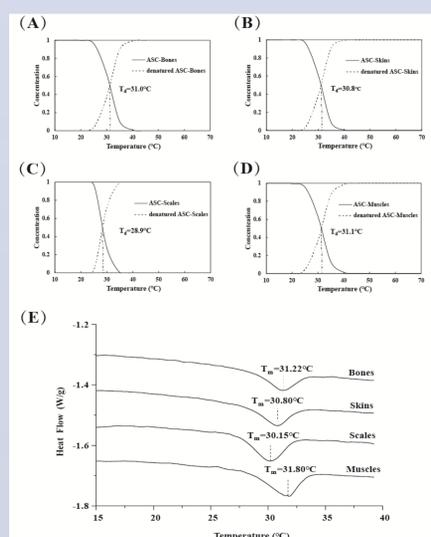
摘要

从大黄鱼的骨骼、皮肤、鳞片 and 肌肉等不同组织中同时提取并鉴定了酸溶性胶原蛋白(ASC)。骨骼、皮肤、鳞片和肌肉中ASC的得率分别为 $0.39 \pm 0.09\%$ 、 $2.7 \pm 0.14\%$ 、 $0.28 \pm 0.10\%$ 和 $0.14 \pm 0.10\%$ 。所有ASCs均具有完整的三股螺旋结构, 由 α_1 链、 α_2 链、 β 链和 γ 链组成, 表明其属于I型胶原。四种组织中, 鳞片中ASC的热稳定性最低, 其变性温度(T_d)为 28.9°C , 相转变温度(T_m)为 30.15°C , 说明其热稳定性不仅与亚氨基酸含量有关, 而且与 β 链的含量高度相关。以上结果表明, 与骨、皮和肌肉相比, 鱼鳞的ASC更容易发生热变性。

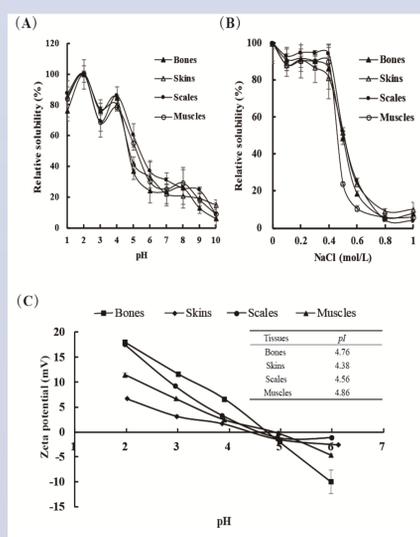
结果



胶原蛋白二级结构的比较



胶原蛋白热稳定性



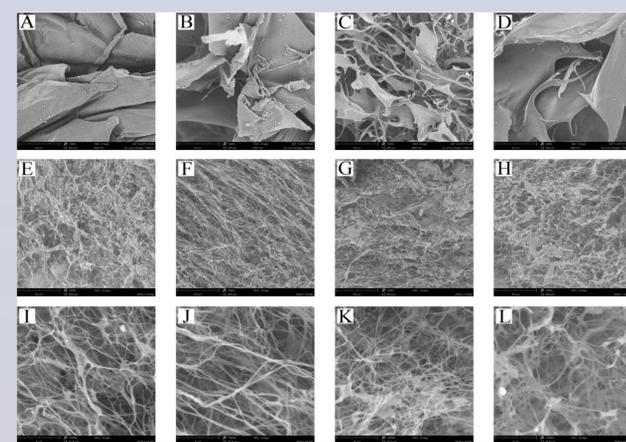
胶原蛋白溶解度影响

| Amino acids | Residues/1000 residues | | | |
|----------------|------------------------|-------|--------|---------|
| | Bones | Skins | Scales | Muscles |
| Aspartic acid | 46 | 48 | 51 | 46 |
| Threonine | 27 | 27 | 29 | 27 |
| Serine | 35 | 33 | 36 | 33 |
| Glutamic acid | 70 | 70 | 74 | 66 |
| Glycine | 346 | 342 | 326 | 342 |
| Alanine | 140 | 140 | 135 | 139 |
| Valine | 24 | 23 | 25 | 24 |
| Cystine | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Methionine | 13 | 14 | 15 | 14 |
| Isoleucine | 5 | 6 | 8 | 6 |
| Leucine | 18 | 23 | 27 | 22 |
| Tyrosine | 5 | 5 | 5 | 5 |
| Phenylalanine | 13 | 14 | 14 | 15 |
| Lysine | 28 | 28 | 31 | 28 |
| Histidine | 6 | 5 | 7 | 6 |
| Arginine | 54 | 55 | 56 | 55 |
| Proline | 113 | 105 | 108 | 108 |
| Hydroxyproline | 56 | 62 | 54 | 65 |
| Total | 1000 | 1000 | 1000 | 1000 |
| Imino acids | 169 | 167 | 162 | 173 |

胶原蛋白氨基酸组成

| Region | Peak wavenumber (cm^{-1}) | | | | Assignment and remarks |
|-------------|--------------------------------------|---------|---------|---------|---|
| | Bone | Skin | Scale | Meat | |
| Amide A | 3307.44 | 3323.80 | 3412.71 | 3326.62 | N-H stretch coupled with H-bond NH bend |
| | 3078.21 | 3080.91 | 3078.31 | 3079.76 | |
| Amide B | 2926.84 | 2927.79 | 2979.73 | 2939.32 | CH_2 asymmetrical stretch CH_2 asymmetrical stretch |
| | 2854.38 | 2855.09 | 2879.75 | 2878.23 | |
| Amide I | 1659.07 | 1651.15 | 1660.81 | 1660.21 | C=O stretch/hydrogen bond coupled with COO^- |
| | 1540.92 | 1541.20 | 1540.73 | 1543.29 | |
| Amide II | 1455.59 | 1455.32 | 1454.41 | 1455.79 | NH bend coupled with CN stretch CH_2 bending (scissors) vibration COO^- symmetrical stretch |
| | 1403.65 | 1404.11 | - | - | |
| Amide III | 1338.80 | 1339.02 | 1338.79 | 1338.88 | CH_2 wag of proline and glycine NH bend stretch coupled CN stretch |
| | 1238.51 | 1239.31 | 1239.40 | 1239.45 | |
| Fingerprint | 1081.61 | 1081.36 | 1081.92 | 1080.95 | C-O skeletal stretch C-O skeletal stretch |
| | 1030.96 | 1031.35 | 1030.81 | 1031.78 | |
| | - | 857.69 | 896.31 | 859.09 | Skeletal stretch Skeletal stretch |
| | 654.75 | 624.19 | 654.55 | 655.11 | |

胶原蛋白红外分析



胶原蛋白纤维化前后电镜观察

结论

本研究成功地从大黄鱼的四种组织中分离出ASCs, 从皮肤中获得的产量明显高于骨骼、鳞片和肌肉所有的ASCs 主要以I型胶原为特征, 并保持其完整的三重螺旋结构。热稳定性不仅与氨基酸的含量有关, 还与 β -链含量有关。不同身体部位的胶原蛋白性质有轻微差异。所有的ASCs 都能在体外自组装形成纤维化, 且由鱼鳞胶原形成的纤维丝较细, 对构建细胞支架具有一定的参考意义。