

浙江产眼镜蛇蛇毒胆碱脂酶的研究

IV 同工酶

STUDIES ON THE CHOLINESTERASE FROM THE VENOM OF NAJA NAJA ATRA OF ZHEJIANG PROVINCE IV. ISOZYME

不同来源的胆碱酯酶的分子量和分子形态往往不同，就是同一来源的胆碱酯酶也有天然存在几种同工酶，有些由于不同亚基组成不同的聚合物，也有在制备或贮藏过程中发生蜕变。在前文(余微明等 1981)报导浙江产眼镜蛇的粗蛇毒或两次亲和层析后的胆碱酯酶在高 pH 不连续系统聚丙烯酰胺凝胶电泳中，均表明有六条活力显色同工酶带，我们用此系统改做双向电泳，比较了新鲜蛇毒原液、蛇毒冻干粉及两次亲和层析后的蛇毒胆碱酯酶，酶(Shafai 法 1971)的条带是沿着聚丙烯酰胺凝胶板的对角线分布，见图 1。说明这些同工酶并非由于在提纯或电泳过程中产生的蜕变。

电泳条件是：高 pH 不连续系统，分离胶浓度 5%，浓缩胶浓度 2.5%，垂直板电泳，板长 18.5 厘米，宽 13.5 厘米，厚度为 0.2—0.3 厘米，电流 20—30 毫安/块板。第一向电泳完毕后，切下一条显色。另外切下一条放在另一块凝胶板的顶端，用浓缩胶固定，走第二向电泳。

可能是同工酶分子间存在着电荷的差异，所以这些同工酶的电泳行为不同。我们用离子交换层析进行分离。DEAE—纤维素 A32，用磷酸缓冲液平衡，氯化钠梯度洗脱，未得到有效的分离效果。

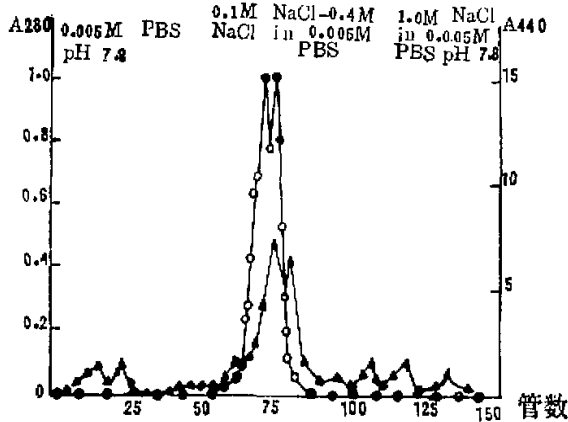


图 2 浙江产眼镜蛇蛇毒 DEAE—纤维素 A32 梯度柱层析图谱
注：1.5 × 25 厘米 —○—○—表示酶活力 —△—△—280nm 光密度吸收

取第 61—81 管进行高 pH 不连续系统聚丙烯酰胺凝胶电泳分析鉴定，结果表明六条同工酶带根据电荷性质依次出现、加深，然后消失(图 3)。

用 CM-Sephrose Cl-6B 分离，也得不到理想的效果。两种方法都只能使蛇毒胆碱酯酶部份分离，而又相互重叠。这可能是由于胆碱酯酶分子中糖苷的影响，也可能在氨基酸序列中有部分的差异。

等电聚焦及分子量测定：经两次亲和层析的浙江眼镜蛇蛇毒胆碱酯酶在 pH5.35—6.35 之间约有 10 条蛋白条带。该制剂按 Oshorn 和 Weber (1969) 方法处理后，进行 SDS 电泳，它的主要条带分子量约为 65KD。

邱雪贞 屈贤铭

(中国科学院上海生物化学研究所)

本文 1983 年 5 月 3 日收到。