

水貂催乳素的纯化*

游源英 德淑兰 徐一树 范植明

(中国科学院动物研究所 北京 100080)

摘要 水貂催乳素纯品制备尚未有报道,我们初次进行了提取,分离和纯化的探索,获得了精品,经鸽腺囊定性鉴定,聚丙烯酰胺凝胶电泳测定, SDS 电泳测定,和以 m-PRL 纯品 1 峰和 2 峰为抗原,制备兔抗 m-PRL 血清,获得抗血清滴度为 1:8000。

关键词 水貂,催乳素,纯化

水貂的催乳素 (mink-prolactin, m-PRL) 至今还没有制成品,所以要建立 m-PRL 放射免疫技术,没有 m-PRL 制品是难以实现的。本文探索制备 m-PRL 纯品,其目的一是要获得 m-PRL 纯品,填补空白;二是用它制备抗血清,建立 m-PRL 放射免疫测定技术;三是利用这项技术推动水貂生活习性和生殖特性的研究。

1 材料与方 水貂脑下垂体是从山东荣成县石岛镇,人和镇和靖海镇各貂场收集的,在 1987, 1988 和 1989 三年,每年冬季宰貂取皮时取得新鲜的垂体,固定于丙酮中,在 4℃ 冰箱中保存。

催乳素制备方法是综合 Ellis 法, Reichert 法和 Hwang 法三种方法^[1-3],进行提取,分离和纯化,所有操作过程均在 4—8℃ 下进行。

2 催乳素提纯步骤 将保存在丙酮中的垂体取出,蒸发去丙酮,称取 37g,以 10 倍 (w/v) 的蒸馏水浸泡 6 小时,用组织捣碎机捣碎,再用玻璃匀浆器匀浆两次,以水和硫酸铵提取分离,去

除垂体其他激素和蛋白 (FSH: 促卵泡激素; LH: 促黄体生成激素; TSH: 促甲状腺激素; GH: 生长激素),步骤按照 Ellis 法(见图 1),然后用乙醇分级沉淀催乳素,经透析,冻干,获得粗品。粗品经过 DEAE 纤维素 (DE32) 柱精制 (DE32 是 Sigma 公司产品,柱 3×15 cm),以 0.01mol/L Tris-HCl (pH8.3) 缓冲液平衡,换内含 0.1mol/L NaCl 的缓冲液洗脱,收集紫外光 280μm 波长部分,得精品 39mg。精品通过生物活性鉴定,采用鸽腺囊法定性试验^[4],同羊-PRL (Sigma 产品) 比较有同样活性,其定量测定,有待采用放射免疫测定技术。将全部的精品通过 Sephadex G-100 柱纯化 (Sigma 产品,柱 3×150cm),用 0.01mol/L Tris-HCl (pH9.0) 缓冲液洗脱,收集紫外光 280μm 波长部分,得 1 峰和 2 峰,最后经透析、冻干、分别得到 15mg 和 11.5mg 纯品。

3 检测与结论

* 国家自然科学基金资助项目。

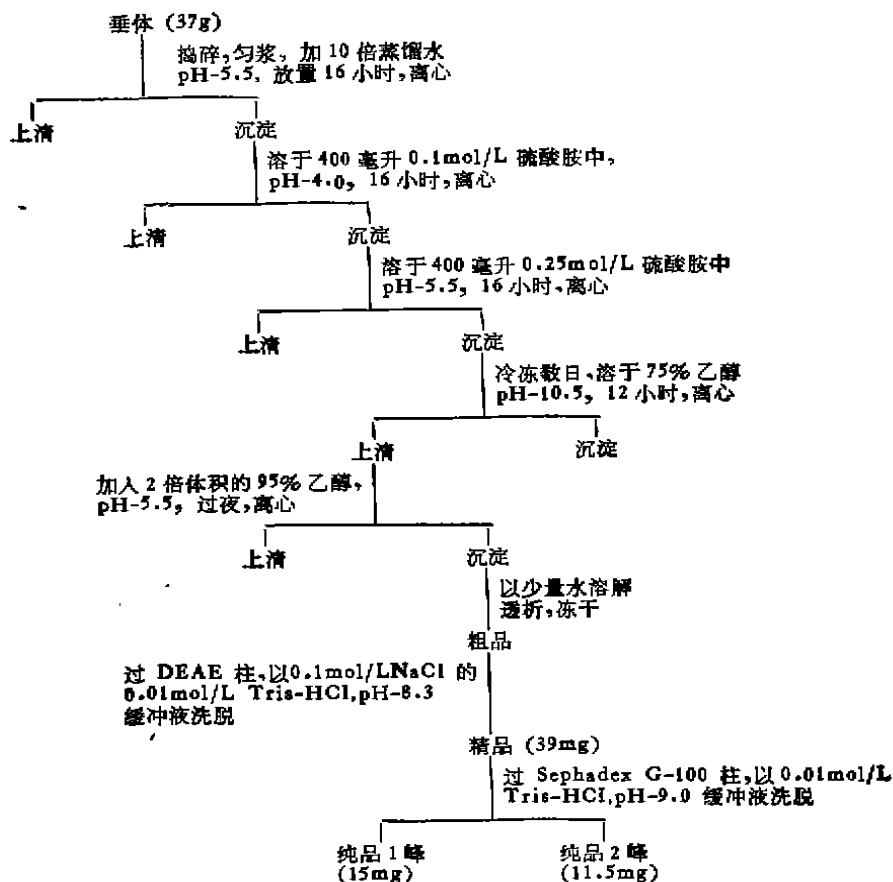


图 1 m-PRL 提纯流程图

注: 操作过程均在 4—8℃, 离心转速 3000 转/分

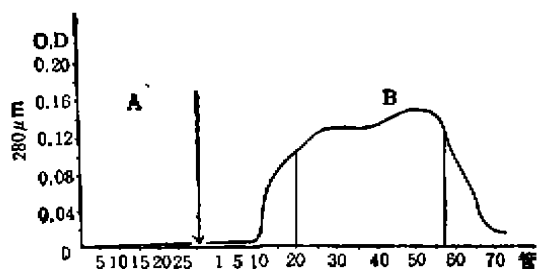


图 2 DEAE 纤维素层析图谱

A: 0.01mol/L Tris-HCl, pH8.3 缓冲液洗脱;
B: 0.01mol/L Tris-HCl, pH8.3 (含 0.1mol/L
NaCl 缓冲液洗脱)。

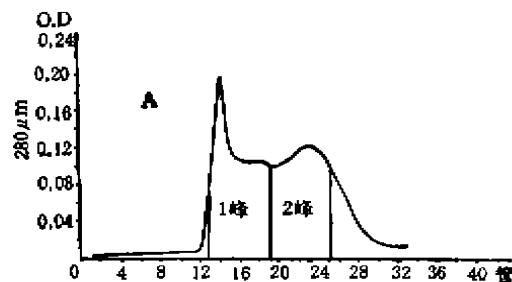


图 3 m-PRL Sephadex G-100 凝胶过滤图谱

A: 0.01mol/L Tris-HCl, pH9.0 缓冲液洗脱

3.1 从 37g 水貂垂体, 经粗提后获得粗品, 粗品经过 DEAE 纤维素柱分离, 以 0.01mol/L NaCl 的 0.01mol/L Tris-HCl (pH8.3) 缓冲液洗脱, 得 m-PRL 精品 39mg (见图 2), 经鸽腺囊定性法鉴定, 获得活性精品。

3.2 m-PRL 精品经 Sephadex G-100 柱纯化, 用 0.01mol/L Tris-HCl (pH8.3) 缓冲液洗脱, 获 2 个峰, 经透析, 冻干, 分别得到 m-PRL 纯品 1 峰 15mg 和 2 峰 11.5mg (见图 3)。

3.3 m-PRL 纯品经聚丙烯酰胺凝胶电泳测定, 电泳图谱是非匀一性的, 带状图谱区带, 与羊-

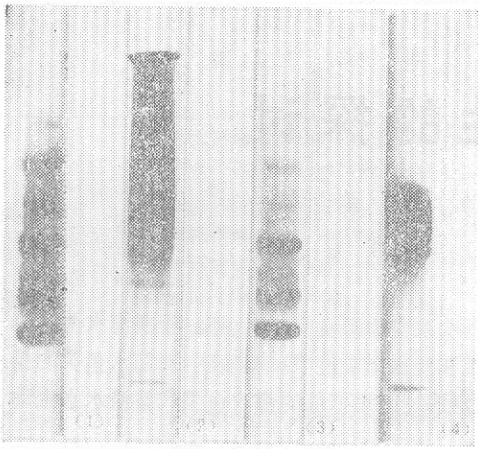


图4 m-PRL 聚丙烯酰胺凝胶电泳图谱
 (1) 羊-PRL(Sigma); (2) m-PRL 2 峰;
 (3) m-PRL 1 峰;(4)猪-PRL (自制)。

PRL (和猪-PRL (自制的) 比较, 1 峰与羊-PRL 有部分重叠, 2 峰与猪-PRL 很相近(见图 4)。

3.4 经 SDS 电泳测定, m-PRL 纯品的分子量, 与标准蛋白比较, 1 峰是 60kd 和 30kd。2 峰接近 20kd。

3.5 以 m-PRL 纯品 1 峰和 2 峰为抗原, 制备兔抗 m-PRL 血清, 分别获得的抗血清, 具有免疫亲和力, 滴度达 1:8000, m-PRL 的测定有待详细报告。

致谢 工作中得到徐慕禹, 于伯华, 马书明同志帮助, 特此致谢。

参 考 文 献

- 1 Ellis, S. *Endocrinology*. 1961, 69(3): 554—570.
- 2 Reichert, L. E. *Methods in endocrinology*. 1975, 37 (part 13):360.
- 3 Hwany, P. *J.B.C.* 1972, 247:1955.
- 4 Meites, J. *Endocrinology*, 1941, 28:707.

《中国珍稀及经济两栖动物》简介

本书汇集作者三十多年的野外考察和室内研究成果并综合大量文献资料编著而成。书中系统论述了两栖动物的主要特征、生态类型、地理分布、资源保护和利用现状, 在各论中对珍稀、濒危和经济物种的形态、生态、分布地区、资源意义等作了记述, 其中对我国的主要经济物种的生态习性、人工养殖、合理利用、产品加工和质量等作了详尽介绍。书中记载了迄今为止我国两栖类已知的全部物种的主要鉴别特征和地理分布; 采用了近十年来本书作者和其他学者新建立的 3 个新亚科, 11 个新属(新亚属), 几十个新种(新亚种)和国内新记录; 并对某些物种的分类地位作了讨论。目前, 我国有尾两栖类尚无完整资料, 本书首次对其 3 科 14 属 37 种(亚种)作了全面总结, 对其形态作了详细的记述, 填补了我国在该学科中的这一空白。书中还论述了两栖动物资源价值, 强调了保护生态环境, 维护生态平衡和物种多样性, 在保持自然种群数量的前提下, 提倡人工养殖和合理利用两栖动物资源; 并对恢复和发展资源提出了若干有益建议。本书内容丰富, 学术和实用价值大, 是作者数十年积累和研究之结晶, 是现阶段记载我国两栖纲所隶 3 目物种最全面系统的专著。本书的特点是既具有较高的学术意义, 又能为国民经济和文化教育事业服务, 是一部科学性和实用性相结合、图文并茂的工具书。

本书由叶昌媛、费梁和胡淑琴研究员编著, 于 1993 年 12 月出版发行, 系 16 开本, 全书 60 万字, 1—412 页, 附图 155 幅。精装本每册 31 元(含挂号邮资)。作者单位还有部分存书, 欲购此书, 邮局汇款寄成都市中国科学院成都生物研究所李健同志收。邮编: 610041。

(费梁 中国科学院成都生物研究所图书情报资料室)