



酪胺酸酶對魚體皮膚黑色素呈現的影響

唐崢賢¹、葉信利²、張學文¹

¹國立中山大學生物科學系、²水產試驗所海水繁養殖研究中心

前言

魚類外觀性狀主要包括體型和皮膚色素沉著，而魚類皮膚顏色是水產養殖中最重要的經濟特徵之一 (Haque et al., 2016)，魚體顏色的鮮豔與否往往會影響消費者的選購意願，例如好的錦鯉 (圖 1a、2a) (*Cyprinus carpio haematopterus*) 除了體型勻稱、魚腹內縮、脊椎高而明顯外，還須具備色澤深亮、色塊分布勻稱以及鰭上墨點對稱等特點；較次等的錦鯉 (圖 1b、2b) 則往往色質差、色塊分布也不均勻。

膚色是魚類外觀的複雜性狀，涉及許多遺傳因素和環境因素。例如皮膚的黑色素 (melanin)，其表現通常受到單一或多個基因控制 (Nelson, 2010)，魚類的“皮膚”具有含有各種色素的色素細胞層 (chromatophores)，會利用黑色素產生棕色、灰色和黑色，以及利用類胡蘿蔔素 (carotenoids) 中，含有氧原子的葉黃素 (xanthophylls) 產生黃色，不含氧原子的胡蘿蔔素 (carotenes) 產生紅色和橙色。遺傳決定這些顏色表現的區域，而飲食則影響實際的色素。黃色和紅色是受增色食品影響最大的兩種顏色 (Malambugi et al., 2020)。魚類無法從頭合成類胡蘿蔔素，可以通過添加富含色素的飼料來提高著色度 (Kaur and Shah, 2017)。

此外，環境與身體條件，體內激素與神經訊號，也會影響皮膚顏色 (Nelson, 2010)，其中酪胺酸酶 (tyrosinase) 對黑色素的形成非常重要 (Solano, 2014)。

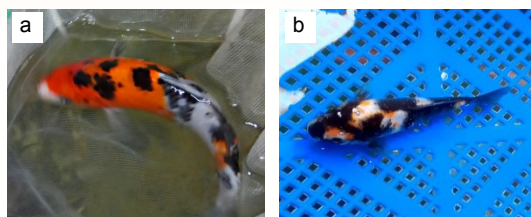


圖 1 a：較好的昭和三色錦鯉；b：較差的昭和三色錦鯉 (欣昌錦鯉魚場提供)

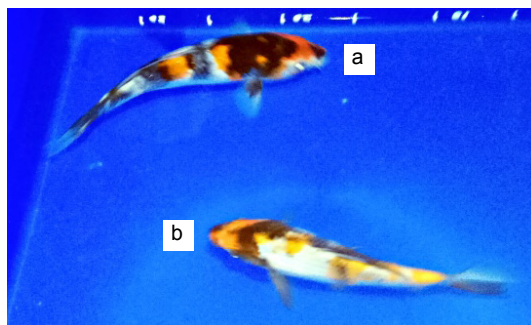


圖 2 a：較好的昭和三色錦鯉；b：較差的昭和三色錦鯉 (欣昌錦鯉魚場提供)

魚類的皮膚結構

色素形成與魚皮膚結構關係密切，以大西洋真鱈 (*Gadus morhua*) 為例，其皮膚結構 (圖 3) (Kijewska et al., 2012) 有鱗片層 (layer of scales)、皮下組織層 (subcutaneous tissue layer) 及肌肉組織 (muscle tissue)，色素細胞層在鱗片層及皮下組織層之間。

和外溫動物相同，魚類產生黑色素的是黑色素細胞 (melanophore)，在大西洋真鱈中，黑色素細胞中的黑色素不規則的分布，而且大部分分布在色素細胞的中央。而相近的黑色素細胞之形狀和大小不規則 (Kijewska et al., 2012)。哺乳動物僅有一種類型的色素細胞—黑色素細胞，但硬骨魚則有 6 種不同的色素細胞，包括黑色素細胞、黃色素細胞 (xanthophores)、紅色素細胞 (erythrophores)、虹彩色素細胞 (iridophores)、白色素細胞 (leucophores) 和藍色素細胞 (cyanophores) (Kelsh, 2004)。如果生活的環境改變，魚類可以快速的透過色素細胞產生的色素改變顏色偽裝自己，而色素細胞和虹彩色素細胞加上黑色素細胞一起作用提供了色調及其改變 (Solano, 2014)。

黑色素

黑色素是負責魚鱗的各種色素沉著的主

要顏料，動物黑色素有兩組，有真黑色素 (eumelanins) 和擬黑色素 (pheomelanin)，真黑色素提供主要深色，從棕色到黑色，擬黑色素則產生黃色或略帶紅色的顏色 (Xu et al., 2014)。所有類型的黑色素簡單易懂的定義是“通過酚的氧化和隨後的中間體，所得的吡咯醌形成的雜鏈聚合物” (Solano, 2014)。黑色素是從酪胺酸及其多巴 (dopa) 代謝物開始的生物化學產物，黑色素的類型和量受到遺傳控制，並且受多種環境因素和內在激素的影響。

酪胺酸

酪胺酸 (tyrosine) 是黑色素的前驅物，在魚體膚色沉著中有重要作用，酪胺酸酶 (tyrosinase, tyr) 則是形成黑色素的關鍵酶 (Solano, 2014)。Gao 等 (2016) 的研究指出，芳香族氨基酸包括苯丙氨酸和酪胺酸，苯丙氨酸是魚類的必需胺基酸，在魚體內無法合

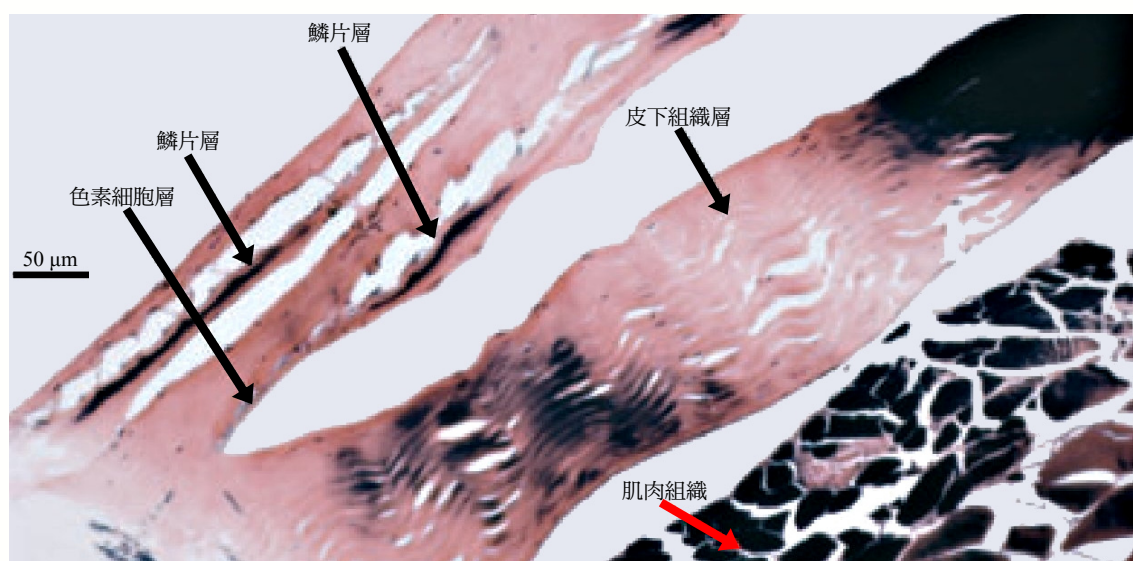


圖3 金鱈魚 (golden cod) 皮膚結構的橫截面 (引用自 Kijewska et al., 2012)

成，必須由食物中獲取，再由魚的肝臟和腎臟轉化為酪胺酸的前驅物。苯丙氨酸在魚類的代謝和生長調節、緊迫反應和色素沉著中具有關鍵作用。但如果苯丙氨酸攝取量不足，則以酪胺酸代替。因此，酪胺酸被認為是魚類的半必需或有條件的必需胺基酸。

酪胺酸酶

黑色素生物合成的第一關鍵步驟是酪胺酸酶對酪胺酸的氧化 (Riley, 1997)。Jiang 等 (2014) 的研究顯示，魚類黑色素中真黑色素和擬黑色素，是由 L-酪胺酸 (L-tyrosine) 及酪胺酸酶參與合成的。酪胺酸酶僅由黑色素細胞 (melanocytic cells) 產生。在內質網 (ER) 和高爾基體中合成並處理後，被轉運至黑色素體 (melanosomes) 中，合成黑色素。L-多巴色素 (L-dopachrome) 是真黑色素生物合成的第二關鍵中間物質。它是一個相對穩定的半醌 (semiquinone) 橙色，吸收波長在 305–475 nm 之間，其生成的量被廣泛使用在比色測定 (Jara et al., 1988; Solano, 2014) 中來確定酪胺酸酶活性。另外，酪胺酸酶在生物技術過程中有重要的應用，雙孢蘑菇純化的酪胺酸酶是醫學應用的潛在重要來源 (Zaidi et al., 2014)。

魚類黑色素形成的生化路徑

由於魚類的顏色會影響消費者的接受意願，因此改良魚類的膚色便成為生物科技的重要研發目標之一。在斑馬魚 (*Danio rerio*) 及馬來西亞尼羅紅魚 (Malaysia red tilapia)

黑色素生成途徑的研究中 (圖 4) (Zhu et al., 2016; Jiang et al., 2014)，酪胺酸被氧化形成多巴醌 (DOPAquinone)，然後通過聚合和氧化反應在細胞內催化變為真黑色素；而其中酪胺酸酶，多巴色素互變異構酶 (dopachrome tautomerase, dct)，酪胺酸酶相關蛋白 1 (tyrosinase-related protein 1, tyrp 1) 和銀基因座蛋白同系物 (silver locus protein homolog, silv) 是真黑色素合成中的重要酶基因；小眼相關轉錄因子 (microphthalmia associated transcription factor, mitf) 的基因表達增加並通過磷酸化刺激了 tyrp 1、dct 和 silv 基因的轉錄，促進合成真黑色素。然而，若在食物中獲取胱氨酸，透過胱胺硫醚 β 合成酶 (cystathionine beta synthase, cbs) 和多巴醌結合，多巴醌被轉化為半胱氨酸多巴 (cysteiny-DOPA)，可以切斷真黑色素的合成途徑，促進擬黑色素合成 (Jiang et al., 2014)。

至於參與魚體皮膚色素沉著的蛋白質的數量，迄今為止確定了 12 種，其中 4 種 (tyr、tyrp 1、dct 和 silv) 參與黑色素合成途徑，8 種參與其他色素蝶啶合成途徑 (GTP 環水解酶 1 (GTP-cyclohydrolase I, Gch I)、GTP 環水解酶 1 反饋調節蛋白 (GTP cyclohydrolase 1 feedback regulatory protein, gchfr)、6-丙酮酰四氫蝶呤合成酶 (6-pyruvoyltetrahydropterin synthase, pts)、墨蝶呤還原酶 (sepiapterin reductase, spr)、二硫化物還原酶 (thioredoxin domain containing 17, clot or txndc 17)、蝶呤-4- α 甲醇胺脫水酶 (pterin-4- α -carbinolamine dehydratase, pcbd)、雙氫蝶啶還原酵素 (dihydropteridine reductase, dhpr)、肽基甘氨酸 α 酰胺化單加氧酶 (peptidylglycine

alpha-amidating monooxygenase, pam)。另以孔雀魚為例，呈現金色和藍色與 KIT 原致癌基因及巨噬細胞集落刺激因子受體 a (colony stimulating factor 1 receptor a, csflra) 和 KIT 原致癌基因受體酪胺酸激酶 a (KIT proto-oncogene, receptor tyrosine kinase a, kita) 表現相互對應。這幾種基因表現在時間和遺傳上影響色素細胞發育，csflra 很關鍵的影響黃色素細胞發育：金色較早出現且 csflra 發育需依賴 kita，而藍色較晚出現且 kita 獨立發育，不需要 csflra。因此，這些基因表現對成年雌雄孔雀魚的偽裝模式會有影響 (Kottler et al., 2013)。

魚類皮膚色素沉著依賴環境和遺傳因素，遺傳因素負責發育階段魚顏色或皮膚色

素沉著圖案；控制可能是單基因，幾個位點參與的色質變化，或者是多基因，添加效果的參與，當多基因的調節時，主要效果基因呈現連續方式的顏色改變 (Colihueque, 2010)。

另外，環境因素可使皮膚顏色產生快速變化，特別是顏色強度，可受生理控制，由激素和神經信號參與，調節色素細胞的分散或聚集，使得皮膚中黑素細胞數量增加或減少。這種色素沉著的變化使得魚產生適應環境的背景顏色 (Colihueque, 2010)。環境因素中的光照也會影響黑色素的濃度和色素沉著分布 (Pavlidis et al., 2008; Zhu et al., 2016)。

藉由了解魚皮膚的結構及色素細胞的轉換、代謝途徑、酵素的影響及基因的調控，讓我們進一步了解調控魚類皮膚增豔的機制。

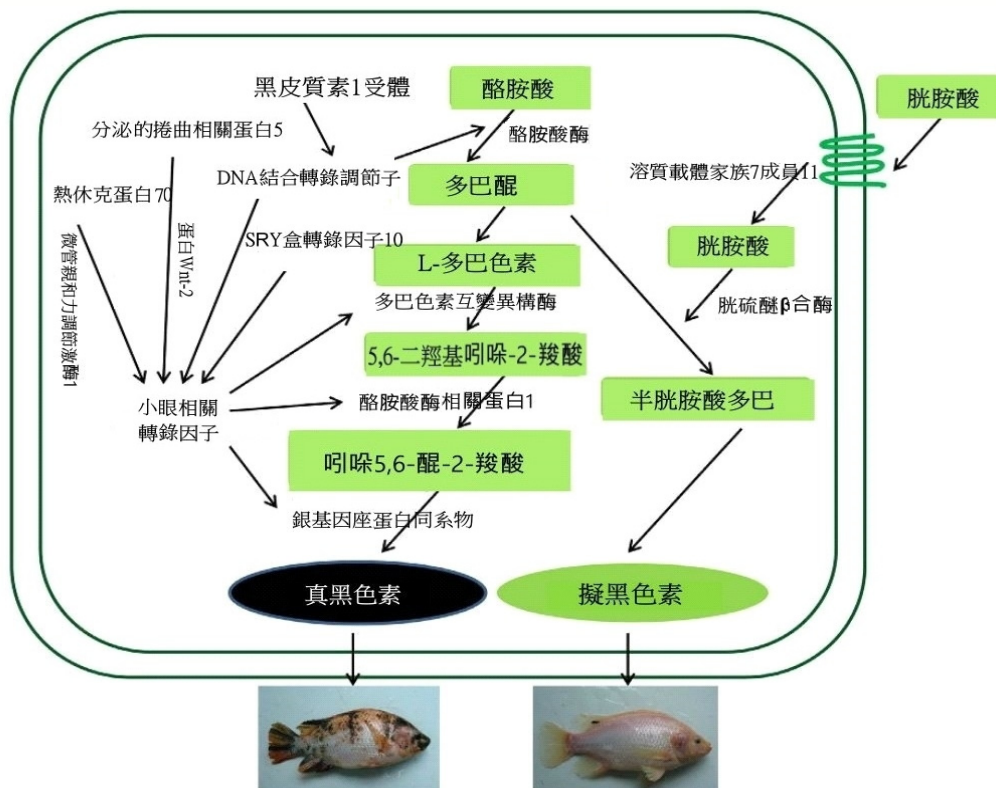


圖 4 由斑馬魚研究推測參與馬來西亞尼羅紅魚皮膚色素沉著過程的基因和途徑 (引用自 Zhu et al., 2016)