

## 乌鸡黑色素对果蝇的紫外辐射保护作用

王哲鹏<sup>1,2</sup> 邓学梅<sup>1</sup> 王安如<sup>3</sup>

(1. 中国农业大学 动物科学技术学院, 北京 100094; 2. 内蒙古农业大学 职业技术学院,  
内蒙古 包头 014109; 3. 中国农业大学 动物医学学院, 北京 100094)

**摘要** 对黄体果蝇进行紫外辐射处理后,在含 0.02 或 0.2 mg/mL 乌鸡黑色素的培养基中培养,通过测定果蝇寿命、繁殖力和 SOD 比活性来分析黑色素的紫外辐射保护作用。结果显示:果蝇在 5 min 紫外辐射 + 0.2 mg/mL 黑色素组的下四分位(14.5 ± 1.3) d、上四分位寿命(23.5 ± 2.1) d 以及平均寿命(15.7 ± 7.1) d 显著( $P < 0.05$ )高于 5 min 紫外辐射组(8.0 ± 1.4)、(16.0 ± 3.3)和(13.5 ± 6.4) d。每对亲本果蝇在 2 min 紫外辐射 + 0.2 mg/mL 黑色素组繁殖子代(50.0 ± 11.4) 只比 2 min 紫外辐射组提高了 156.4% ( $P < 0.05$ )。另外,黑色素可能对辐射处理果蝇体内 SOD 比活性有保护作用,果蝇在 5 min 紫外辐射 + 0.02 mg/mL 黑色素组和 5 min 紫外辐射 + 0.2 mg/mL 黑色素组的 SOD 比活性((209.1 ± 13.1)和(213.25 ± 7.7) μmol/(mg·min)) 高于 5 min 紫外辐射组((204.2 ± 11.5) μmol/(mg·min)),但差异均不显著。本试验发现乌鸡黑色素能够延长辐射处理果蝇的寿命,提高繁殖力,对其 SOD 活性可能也具有保护作用。上述作用或许与黑色素清除自由基的特性有关,同时,2 min 紫外辐射 + 0.2 mg/mL 黑色素组高繁殖力的原因可能还与黑色素对果蝇生殖细胞的保护有关。

**关键词** 乌鸡黑色素; 果蝇; 紫外辐射; 寿命; 繁殖力; SOD 比活性

**中图分类号** R 282.74; R 594.5

**文章编号** 1007-4333(2007)01-0017-05

**文献标识码** A

## Photoprotective effect of melanin derived from White Silky Fowl on *Drosophila melanogaster* against ultraviolet radiation

Wang Zhepeng<sup>1,2</sup>, Deng Xuemei<sup>1</sup>, Wang Anru<sup>3</sup>

(1. College of Animal Science and Technology, China Agricultural University, Beijing 100094, China;

2. Vocational and Technical College of Inner Mongolia Agricultural University, Baotou 014109, China;

3. College of Veterinary Medicine, China Agricultural University, Beijing 100094, China)

**Abstract** The Yellow strain of *Drosophila* was used to evaluate photoprotective power of melanin against ultraviolet radiation (UVR). Flies were firstly exposed to UVR for 2 or 5 min, and then reared in culture media with melanin at concentrations of 0.02 or 0.2 mg/mL for a week. Flies were then transferred to basic culture media to determine their fecundity and SOD activity. The lower and upper quartile and mean life spans which were (14.5 ± 1.3), (23.5 ± 2.1) and (15.7 ± 7.1) days respectively, of y in 5 min UV + 0.2 mg/mL melanin group were significantly ( $P < 0.05$ ) higher than those ((8.0 ± 1.4), (16.0 ± 3.3) and (13.5 ± 6.4) days) in 5 min UV group. Fecundity (mean number of offsprings per couple) of y in 2 min UV + 0.2 mg/mL melanin group was (50.0 ± 11.4) or 156.4% ( $P < 0.05$ ) more than that of y (19.5 ± 12.5) in 2 min UV group. We also found that melanin may play a role in protecting SOD in flies exposed to UVR from degrading. Although the SOD activities ((209.1 ± 13.1) and (213.25 ± 7.7) μmol/(mg·min)) of flies in 5 min UV + 0.02 mg/mL melanin and 5 min UV + 0.2 mg/mL melanin groups were higher than those ((204.2 ± 11.5) μmol/(mg·min)) of flies in 5 min UV group, the differences were insignificant. Therefore melanin can extend life span, improve fecundity and increase SOD activity of y exposed to UVR through scavenging free radicals in y. At the

收稿日期: 2006-06-05

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30471233)

作者简介: 王哲鹏, 硕士研究生; 邓学梅, 副教授, 通讯作者, 主要从事畜禽分子育种及动物发育遗传研究, E-mail: deng @cau.edu.cn

same time the positive role of melanin in fecundity may be attributed to its protection of germ cells.

Key words melanin from white silky fowl; *Drosophila melanogaster*; ultraviolet radiation; life span; fecundity; SOD activity

紫外辐射 (ultraviolet radiation, UVR) 是环境中最容易接触到的诱变剂,过量的紫外辐射可加速细胞老化甚至诱发皮肤癌。研究证实 UVR 能够诱导细胞中的水介质 (细胞中的主要化学组成) 发生射解,产生各种自由基 ( $O_2^-$ 、 $OH\cdot$  及  $H_2O_2$ ) 和活性氧 (reactive oxygen species, ROS)<sup>[1]</sup>。在机体中 ROS 的产生与清除处于动态平衡状态,但是当有外界不良因素 (真菌毒素、太阳辐射、氧化还原物质) 刺激时,ROS 将大量产生,对核酸及细胞器造成氧化损伤,引发突变,导致细胞乃至生物机体出现老化。

生物体内沉积的黑色素 (melanin) 是保护生物免受辐射损伤的天然聚合物,它清除自由基抗氧化的特性成为其 UVR 保护功能的基础<sup>[2]</sup>。试验证明,工程菌所产的黑色素可防止紫外线照射引起单一型质粒 DNA 双链断裂,保护苏云金芽孢杆菌 (*Bacillus thuringiensis*, B. t.) 毒素蛋白免受降解<sup>[1]</sup>。黑色素对生物大分子及原核生物的辐射保护作用已有大量报道,但目前对果蝇的辐射保护作用研究较少,仅有报道见于 Mosse 和 Lyakh 对 1-DOPA 自氧化得来的黑色素的研究,他们发现这种黑色素能有效降低 X 射线造成果蝇致死和半致死突变的比例<sup>[3]</sup>。

UVR 对果蝇具有明显的生物学效应,高剂量时可导致果蝇寿命缩短、繁殖力降低,低剂量时可引起幼虫蠕动增强<sup>[4-6]</sup>,对生殖细胞的处理还可引起染色体丢失或基因突变<sup>[6]</sup>,这说明果蝇对 UVR 较敏感。寿命和繁殖力是反映个体对环境应激适应性的重要指标。SOD 可以清除体内自由基,减少过氧化物形成,从而保护大分子免受氧化损伤,但 B 波段紫外线 (ultraviolet B) 辐射能对 SOD 造成破坏<sup>[7]</sup>;因此 SOD 活性也曾被用作评价应激引起的细胞毒性和细胞活性的指标<sup>[8]</sup>。

黑色素由多巴等一些结构单元聚合而成,不同黑色素的物理、化学性质不同。国内外医学界发现乌鸡黑色素可延长果蝇寿命,具有清除自由基、抗氧化、抗诱变的功能<sup>[9-10]</sup>;然而,乌鸡黑色素对果蝇是否仍具有良好的辐射保护作用还未见报道。本试验从乌鸡皮肤中提取黑色素,添加于果蝇培养基中,旨在探讨其对辐射处理果蝇的影响,从而为乌鸡黑色

素作为辐射保护剂的开发利用提供科学依据。

## 1 材料方法

### 1.1 试验动物

黄体果蝇由中国农业大学动物遗传育种实验室提供。基础培养基由玉米、琼脂、红糖、苯甲酸及干酵母配制而成。果蝇的培养在  $(25 \pm 1)$  °C,相对湿度 60% 左右,12 h 光照的培养箱中进行。

### 1.2 仪器设备

253.7 nm 紫外灯 (220 V, 15 W, 北京东进, TC2326), 生化培养箱, 低温冷冻超速离心机, UV-2000 紫外分光光度计 (上海, UNICO)。电子自旋共振 (EPR) 波谱仪 (ER-200D, 德国 BRUKER 公司)。

### 1.3 乌鸡黑色素的提取及检测

提取过程参照刘望夷的方法进行<sup>[11]</sup>, 但将加热回流时间由 300 h 缩短为 48 h。将乌鸡皮肤剪碎后,用 1% (体积分数) 盐酸洗涤 2 次去除污物及部分油脂。每 100 g 皮肤组织加 30% (体积分数) 的浓盐酸 400 mL, 105 °C 回流水解 48 h, 水解结束后将混合溶液静置冷却 (4 °C) 2 h, 黑色素与油脂混合并凝结于液相表面。所得的黑色素油脂混合物用丙酮在室温下充分搅拌溶解, 3 600 r/min 离心 10 min 去除上清液。上述过程重复 3 次充分除去油脂。最后用双蒸水洗涤离心 3 次得黑色素。

本试验乌鸡黑色素的提取率为 0.13% (以湿重计)。检测结果与已有文献报道一致<sup>[11]</sup>, 乌鸡黑色素的 EPR 谱为典型一次微商稍不对称波谱 (图 1),  $g = 1.999\ 64$ ,  $H = 5.62\ G$ 。检测条件为: 扫宽 200.0 Gs, 调制 1 G, 放大倍数  $4.0 \times 10^3$ , 微波功率 0.2 mW, 调制频率 100.0 kHz, 温度 25 °C。黑色素 EPR 共振谱在中国科学院生物物理所测定。

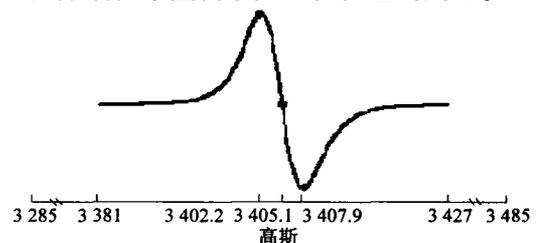


图 1 乌鸡黑色素的 EPR 共振谱

Fig. 1 EPR spectra of melanin from white silk fowl

#### 1.4 黑色素饲喂及 UVR 处理方法

黑色素的添加方法为:将 2 mg/mL 黑色素悬浮液加入融化未凝固的基础培养基中,然后分装于培养管,培养基含黑色素的终质量浓度为 0.02 或 0.2 mg/mL。

将果蝇轻度麻醉后收集于直径 100 mm 高 10 mm 的培养皿内,并以网罩遮盖以防止果蝇飞走。培养皿被置于紫外灯正下方 15 cm 处,辐射时间为 5 min(寿命、SOD 试验)或 2 min(繁殖力试验),紫外辐射照度为 500  $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ 。为了确保紫外灯照射不对果蝇造成热应激,影响寿命和繁殖力,紫外辐射期间控制温度在 25  $^{\circ}\text{C}$ 。照射完成后将果蝇轻度麻醉收集于相应培养管培养。

#### 1.5 果蝇寿命和繁殖力试验

果蝇寿命试验在直径 2.5 cm 长 18 cm 的培养管进行,共重复 3~7 次(中值=6),每次由 15~71 只果蝇构成(中值=31),雌雄各半。寿命试验分 4 个组:CK:不进行紫外辐射,在普通培养基中培养;Tr1 组:5 min 紫外辐射,在普通培养基中培养;Tr2 组:5 min UV + 0.02 mg/mL 黑色素;Tr3 组:5 min UV + 0.2 mg/mL 黑色素。各组果蝇在相应的培养管中培养 1 周后转入普通培养管,4 d 更换 1 次培养基并记录死亡果蝇数,直至果蝇全部死亡。

繁殖力试验在直径 1.5 cm 长 13 cm 的培养管进行,每管放置一对亲本(8 h 内羽化)。试验分 3 个组:CK;Tr1 组:2 min 紫外辐射,在普通培养基中培养;Tr2 组:2 min UV + 0.2 mg/mL 黑色素。各组由 22~46 对亲本(中值=30)构成,亲本果蝇在培养管中自由交配,产卵 1 周后被去除。每管从出现子一代成虫的第 1 天起开始记录,连续记录 10 d 羽化的子代数。

#### 1.6 SOD 比活性测定

收集 800 只 24 h 内羽化的果蝇,雌雄各半。实验分 4 个组:CK;Tr1 组:5 min UV;Tr2 组:5 min UV + 0.02 mg/mL 黑色素;Tr3 组:5 min UV + 0.2 mg/mL 黑色素。每组由 200 只果蝇构成,各组测定 10 个样本,每个样本 20 只果蝇,雌雄各半,所测果蝇均为 1 周龄。用预冷的生理盐水 0.50 mL 作为匀浆介质,将果蝇麻醉后收集于匀浆管中进行匀浆。将制备好的匀浆用高速冷冻离心机 4 3 600 r/min 离心 10 min,取上清液待测。果蝇体内总蛋白(考马斯亮蓝法)、SOD 活性(羟胺法)的测定采用南京建成生物工程研究所生产的试剂盒进行,SOD 比活性单位为  $\mu\text{mol}/(\text{mg}\cdot\text{min})$ 。

#### 1.7 统计方法

所有统计分析均由 SAS V8.02 软件完成。生存分析由 lifetest 过程完成。应用非参数乘积极限法(Kaplan-Meier)估计各时点的累计生存率,平均数、上下四分位寿命及中位寿命。生存曲线采用对数秩检验(Log-rank test),组间均数比较采用 Duncan 法,显著水平  $P < 0.05$ 。

## 2 结 果

### 2.1 生存分析

本研究发​​现饲喂黑色素对黄体果蝇有一定辐射保护作用,在 Tr2 和 Tr3 组有 75% 的果蝇寿命达到 14 d,25% 的果蝇寿命达到 23 d,均显著高于 Tr1 组的 8 和 16 d( $P < 0.05$ )。中位寿命在 3 个处理组间无显著差异(表 1)。果蝇的平均寿命也有相似的结果,Tr2 和 Tr3 组的平均寿命均高于 Tr1 组,其中 Tr3 组((15.7  $\pm$  7.1) d)与 Tr1 组((13.5  $\pm$  6.4) d)的差异已达显著水平,3 个处理组果蝇平均寿命及各分位点寿命均显著低于 CK(表 1)。

表 1 饲喂乌鸡黑色素对辐射果蝇平均寿命和分位点寿命的影响

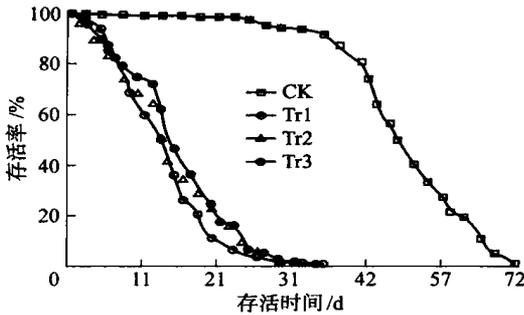
Table 1 Effect of melanin from White Silk Fowl feeding on parameters of life span in Yellow exposed to UVR

组别	样本量	平均寿命	四分位及中位寿命		
			25 %	50 %	75 %
CK	132	49.9 $\pm$ 11.2 a	45.0 $\pm$ 6.9 a	52.3 $\pm$ 8.2 a	57.8 $\pm$ 5.9 a
Tr1	195	13.5 $\pm$ 6.4 c	8.0 $\pm$ 1.4 c	13.4 $\pm$ 3.6 b	16.0 $\pm$ 3.3 c
Tr2	127	14.8 $\pm$ 7.2 bc	14.3 $\pm$ 1.7 b	14.0 $\pm$ 0.0 b	23.3 $\pm$ 1.7 b
Tr3	100	15.7 $\pm$ 7.1 b	14.5 $\pm$ 1.3 b	16.8 $\pm$ 4.3 b	23.5 $\pm$ 2.1 b

注:平均寿命及 25%,50%,75% 分位点的寿命被表示为 mean  $\pm$  SD,共进行 3~7 独立实验(中值=6),每次实验由 15~17 只果蝇(中值=31)构成,雌雄各半。组间均数多重比较用 Duncan 法,各处理组内同列数据字母不同表示差异显著( $P < 0.05$ )

对各处理组果蝇进行生存曲线分析(图 2)。与 CK 相比,Tr1 组果蝇生存率显著降低( $P < 0.0001$ )。

饲喂 0.2 mg/mL 乌鸡黑色素 (Tr3 组) 可显著提高辐射果蝇的存活率 ( $P = 0.007$ ), 但饲喂 0.02 mg/mL 黑色素 (Tr2 组) 对辐射果蝇的保护作用不明显 ( $P = 0.062$ )。3 个处理组果蝇的存活率均极显著低于 CK ( $P < 0.0001$ )。



各处理组存活曲线间齐性检验采用 Log-rank test 法。多重比较结果: CK 与 3 个处理组  $P < 0.0001$ ; Tr1 组与 Tr2 和 Tr3 组  $P = 0.062$  和  $P = 0.07$ ; Tr2 和 Tr3  $P = 0.4519$ 。各曲线由 3~7 次 (中值 = 6) 重复实验所得数据绘制而成, 每次试验果蝇 15~17 只/组 (中值 = 31 只), 雌雄各半

图 2 各处理黄体果蝇存活曲线

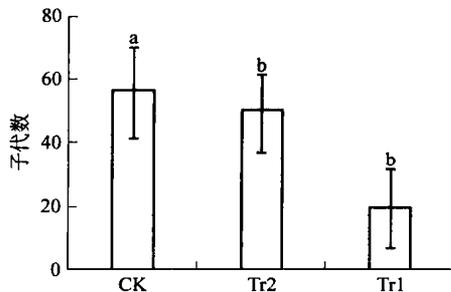
Fig. 2 Kaplan-Meier survival plots, illustrating the effect of UVR or combination of UVR and melanin on the life span of Yellow

## 2.2 繁殖力

为研究 UVR 和黑色素对果蝇繁殖力的影响, 测定了每对亲本果蝇 10 d 内羽化的总子代数 (图 3)。结果显示, 果蝇在 Tr1 组的繁殖力 ( $19.5 \pm 12.5$ ) 显著低于 CK ( $56.5 \pm 13.8$ )。饲喂黑色素对辐射处理果蝇的繁殖力有明显改善作用, 果蝇在 Tr2 组的繁殖力 ( $50.0 \pm 11.4$ ) 比 Tr1 组 ( $19.5 \pm 12.5$ ) 提高 156.4% ( $P < 0.05$ )。Tr2 与 CK 组的繁殖力无显著差异。

## 2.3 SOD 比活性分析

通过测定果蝇体内 SOD 比活性发现, 5 min 紫

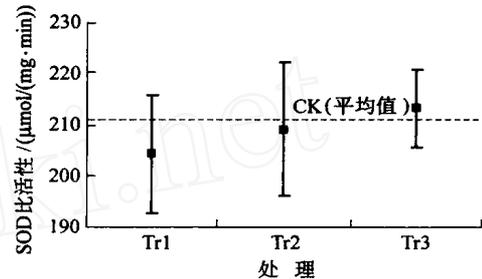


各条柱上字母为 Duncan 多重比较结果, 字母不同为差异显著 ( $P < 0.05$ ), 否则为差异不显著; 数据为均值 ( $\pm 1SD$ ), 由 22~46 个样本 (中值 = 30) 计算得到; 子代羽化时间为 10 d

图 3 UVR 及饲喂乌鸡黑色素对黄体果蝇生殖力的影响

Fig. 3 Effect of UVR and melanin feeding on fecundity of Yellow

外辐射处理 (Tr1) 能降低果蝇体内 SOD 比活性 ( $204.2 \pm 11.5$ )  $\mu\text{mol}/(\text{mg} \cdot \text{min})$ , 但与 CK ( $212.7 \pm 23.5$ )  $\mu\text{mol}/(\text{mg} \cdot \text{min})$  的差异不显著 (图 4)。黑色素可能对辐射处理果蝇体内 SOD 比活性有保护作用, 果蝇在 Tr2 和 Tr3 组的 SOD 比活性 ( $209.1 \pm 13.1$ ) 和 ( $213.25 \pm 7.7$ )  $\mu\text{mol}/(\text{mg} \cdot \text{min})$  高于 Tr1 组 ( $204.2 \pm 11.5$ )  $\mu\text{mol}/(\text{mg} \cdot \text{min})$ , 但差异均不显著 (图 4)。



各组 SOD 比活性平均值 ( $\pm 1SD$ ) 由 3~10 个样本 (中值 = 4.5) 计算得到, 各组间均无显著差异

图 4 UVR 及饲喂乌鸡黑色素对果蝇体内 SOD 比活性的影响

Fig. 4 Effect of UVR and melanin feeding on SOD activity of Yellow

## 3 讨论

### 3.1 UVR 对果蝇寿命、繁殖力和 SOD 比活性的损害

在本研究中无论是寿命、繁殖力, 还是 SOD 比活性, Tr1 组均低于 CK, 有的差异已达显著水平。研究表明, 紫外辐射对生物体的损伤通常以 2 种途径进行, 一是直接导致基因突变; 二是通过诱导机体产生自由基对 DNA 及细胞成分造成氧化损伤<sup>[12]</sup>。现代自由基学说认为, 上述损伤如不能得到及时修复将诱发衰老。据报道, UVR 也能诱导脂质过氧化反应, 并且对抗氧化防御系统 (如: SOD) 造成破坏<sup>[7]</sup>。所以这种结果很可能是由 UVR 诱发的氧化损伤所造成, 而给遭受紫外辐射的动物提供一种有效的抗氧化剂, 理论上应可以提高其抗辐射的能力。

### 3.2 乌鸡黑色素对辐射处理果蝇的延寿作用

黑色素是保护生物体免受辐射损伤的天然聚合物<sup>[1]</sup>。以后的研究表明乌鸡黑色素能够清除超氧阴离子 ( $O_2^{\cdot -}$ ), 具有类似 SOD 的功能<sup>[11]</sup>。Mosse 和 Lyakh 发现黑色素能显著降低 X 射线引起果蝇致死和半致死突变的比率, 提出上述清除自由基特性可能是黑色素辐射保护功能的重要机制之一<sup>[2-3]</sup>。本试验中乌鸡黑色素能有效延长辐射处理果蝇在

25 %和 75 %时点的寿命及平均寿命,提高生存率(图 2,表 1),证明外源添加的黑色素可能通过降低果蝇体内的自由基来减小氧化损伤,延长寿命。

### 3.3 UVR 及乌鸡黑色素对果蝇繁殖力的影响

与张建民的研究结果相似<sup>[5]</sup>,本试验中 UVR 显著降低果蝇子代数(图 3)。究其原因,一方面 UVR 诱发的氧化应激可以扰乱正常代谢,进而影响果蝇的繁殖力;另一方面,果蝇的中枢神经系统易受自由基的影响,所以过量的 UVR 也可能通过对神经系统造成不可逆的损伤来影响果蝇的求爱行为,减少交配,降低繁殖力<sup>[13]</sup>。

外源添加的黑色素对果蝇繁殖力有很好的保护作用,Tr2 组的繁殖力显著高于 Tr1 组(图 3)。首先,黑色素可能通过降低果蝇遭受的氧化应激来改善其繁殖力;其次,Mosse 和 Lyakh 通过分析发生在 3 号染色体上的伴性隐性致死突变,发现黑色素可以降低辐射诱导致死突变发生的机率<sup>[3]</sup>。其对果蝇生殖细胞的保护也可能是造成 Tr2 组高繁殖力的原因之一。

### 3.4 UVR 及乌鸡黑色素对果蝇体内 SOD 比活性的影响

研究表明,作为一种应激源,UVR 对生物体内的 SOD 比活性有不利影响。Ozkur 等对小鼠皮肤进行 UVB 辐射处理后发现,辐射处理组的 SOD 比活性显著低于对照<sup>[7]</sup>。本试验也发现辐射处理能降低果蝇体内 SOD 比活性,与此同时,饲喂乌鸡黑色素对其体内的 SOD 比活性有一定改善作用,尽管差异不显著(图 4)。Hodgson 等认为当机体遭受氧化损伤比较严重时,体内过量的 ROS 可导致 SOD 发生降解<sup>[14]</sup>。显然,UVR 作为一种自由基诱发剂可增加果蝇体内的 ROS。所以,Tr1 组果蝇体内 SOD 比活性的降低可能是 SOD 在清除 UVR 诱发的 ROS 的过程中发生降解所致<sup>[7]</sup>,而外源添加的乌鸡黑色素是有效的抗氧化剂,它可能通过缓解辐射处理果蝇遭受的氧化应激来减少 SOD 的降解,提高其活性。

## 4 小 结

本研究发现乌鸡黑色素对辐射处理果蝇有明显保护作用,能显著延长其寿命,提高繁殖力,对体内 SOD 活性也有一定保护。笔者认为乌鸡黑色素清除自由基的特性很可能是其辐射保护的作用机制之一。此外,2 min UV + 0.2 mg/mL 黑色素组高繁殖

力的原因也可能与黑色素对果蝇生殖细胞的保护有关。

## 参 考 文 献

- [1] 宁华. 工程菌所产黑色素对生物大分子光保护作用的研究[J]. 华中师范大学学报, 2001, 35: 85-88
- [2] Ortonne J P. Photoprotective properties of skin melanin [J]. British Journal of Dermatology, 2002, 146: 7-10
- [3] Mosse I B, Lyakh I P. Influence of melanin on mutation load in *Drosophila* populations after long-term irradiation[J]. Radiat Res, 1994, 139: 357-359
- [4] 张俊贤,郭光艳,齐志广. 紫外线对果蝇生长发育和表型变异的影响[J]. 河北师范大学学报:自然科学版, 2006, 30(1): 90-93
- [5] 张建民. 紫外线对黑尾果蝇的生物学效应[J]. 昆虫知识, 1994, 31(4): 242-244
- [6] Baden H P, Kollias N, Anderson R R, et al. *Drosophila melanogaster* larvae detect low doses of UVC radiation as Manifested by a writhing response [J]. Arch Insect Biochem Physiol, 1996, 32: 187-196
- [7] Ozkur M K, Bozkurt M S, Balabanli B, et al. The effects of EGB 761 on lipid peroxide levels and superoxide dismutase activity in sunburn [J]. Photodermatol Photoimmunol Photomed, 2002, 18: 117-120
- [8] Akeo K, Amaki S, Suzuki T, et al. Melanin granules prevent the cytotoxic effects of L-DOPA on retinal pigment epithelial cells *in vitro* by regulation of NO and superoxide radicals[J]. Pigment Cell Res, 2000, 13(2): 80-88
- [9] 徐幸莲,庄苏,陈伯祥. 乌骨鸡黑色素对延缓果蝇衰老的作用[J]. 南京农业大学学报, 1999, 22(2): 105-108
- [10] 李华,邱祥聘,龙继蓉. 乌骨鸡黑色素的研究进展[J]. 畜牧与兽医, 2002, 34(8): 33-35
- [11] 刘望夷,蔡菊娥,沈枝安. 乌骨鸡黑色素的元素组成与自由基状态初探[J]. 分子科学与化学研究, 1982, 9: 95-100
- [12] Swindells K, Rhodes L E. Influence of oral antioxidants on ultraviolet radiation-induced skin damage in humans [J]. Photodermatol Photoimmunol Photomed, 2004, 20: 297-304
- [13] Bonilla E, Medina-Leendertz S, et al. Extension of life span and stress resistance of *Drosophila melanogaster* by long-term supplementation with melatonin [J]. Exp Gerontol, 2002, 37: 629-638
- [14] Hodgson E K, Fridovich I. The interaction of bovine erythrocyte superoxide dismutase with hydrogen peroxide: inactivation of the enzyme [J]. Biochemistry, 1975, 14: 5294-5299