

脉红螺与“强棘红螺”三种同工酶的比较研究*

程 济 民

(东北民族学院生物系)

侯圣陶 张维民 侯 林

李国华 王秋雨

(东北师范大学生物系)

提要 本文采用聚丙烯酰胺凝胶板电泳和圆盘电泳对脉红螺 (*Rapana venosa*) 及“强棘红螺”(*Rapana peichiliensis*) 肝脏中的三种同工酶 (酯酶、苹果酸脱氢酶、过氧化物酶) 进行了电泳研究, 并以香螺 (*Neptuncea cumingi*) 作参照, 发现前两者的三种同工酶电泳图谱及扫描曲线完全一致。结合前人的研究资料, 认为脉红螺与“强棘红螺”是同一种。

本文对脉红螺及以往被定名的“强棘红螺”的肝脏中三种同工酶 (即酯酶、苹果酸脱氢酶、过氧化物酶) 进行了聚丙烯酰胺凝胶板电泳和圆盘电泳, 试图从生化角度论证两者的亲缘关系, 并以香螺同样三种酶系为参照。

场, 为活的新鲜个体。本研究共用 18 个标本。

(二) 取材

1. 对三种样品均选取螺层 6 层、壳高 90mm 以上的成熟个体。2. 对脉红螺和“强棘红螺”, 按张福绥^[1] 选其形态学上差异较大的个体, 即选 I 型为脉红螺, 选 VII 型为“强棘红螺”, 后者的体螺层棘高为 7mm 左右。3. 打碎螺壳, 取肝脏, 精称 100mg。

一、材料与方 法

(一) 材料

脉红螺、“强棘红螺”和香螺均购于大连市

(三) 酶液制备

脉红螺、“强棘红螺”和香螺同工酶电泳酶带 Rf 值比较表

Tab Rf values of three isoenzymes of *R. venosa*, *R. peichiliensis* and *N. cumingi*

| Rf 值 样品 | 酯 酶 ES | | | | | 苹果酸脱氢酶 MDH | 过氧化物酶 POD | | |
|------------|-----------|-------|-------|-------|-------|---------------|--------------|-------|-------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 1 | 2 | 3 |
| 脉 红 螺 | 0.072 | 0.343 | 0.399 | | | 0.045 | 0.200 | 0.362 | |
| “强棘红螺” | 0.073 | 0.349 | 0.398 | | | 0.045 | 0.188 | 0.362 | |
| 香 螺 | 0.028 | 0.202 | 0.359 | 0.473 | 0.636 | 0.148 | 0.050 | 0.250 | 0.350 |

* 此文承中国科学院海洋研究所张福绥教授审阅, 谨致谢忱。

100mg 腺体中加 1ml Tris-HCl pH8.0 样品提取液, 于冰浴中研磨匀浆, 冷冻离心机 5000p. r. g, 4°C 离心 15 分钟, 取上清液。

(四) 电泳

聚丙烯酰胺凝胶板和圆盘电泳采用不连续系统, 分离胶浓度 7.0%, pH8.9; 浓缩胶浓度 3.0%, pH6.3。点样 50 μl/槽, 0.01% 溴酚兰为前沿指示剂。电极缓冲液采用 Tris-甘氨酸缓冲液, pH8.0, 上端为负极, 下端为正极, 稳压 200 伏。冰箱中电泳 4—5 小时。

(五) 染色

酯酶染色参见汪德耀^[3]等人的资料; 苹果酸脱氢酶染色见 1980 年《植物生理通讯》第 4 期; 过氧化物酶为抗坏血酸—联苯胺法染色。染色后的凝胶用 7% 醋酸脱色、保存, 以波长 520nm 进行扫描。

(六) 仪器

1. TGLL-18 台式高速冷冻离心机。
2. DYY-III 型稳压稳流电泳仪。
3. DGS-1 型电泳光密度扫描仪。

二、结 果

(一) 酯酶同工酶电泳图谱

脉红螺与“强棘红螺”(以下两者简称为红螺组)均分出 3 条酶带, 参照各自扫描曲线及各带的迁移率, 可见红螺组酯酶同工酶酶系无论在成份及含量上均相同(见表和图 1 中 A, B, C), 而香螺该酶系可分出 5 条带(见表和图 1 中的 C, D)。

红螺组的酶带可分为 A 区和 B 区, A 区由第 1 酶带组成, B 区由第 2、第 3 酶带组成。第 3 条酶带颜色最深, 酶含量最高。而蛾螺科的香螺则为 5 条均匀分散的酶带, 其中第 3 条带颜色最深, 酶含量最高。

(二) 苹果酸脱氢酶电泳图谱

该酶在红螺组含量非常低, 仅有 1 条酶带, 且强烈扩散, 带较宽。参照各自扫描曲线及迁移率, 可见脉红螺与“强棘红螺”酶带完全相同(图 2 中, A, B, D 和表)。香螺也仅分出 1 条酶

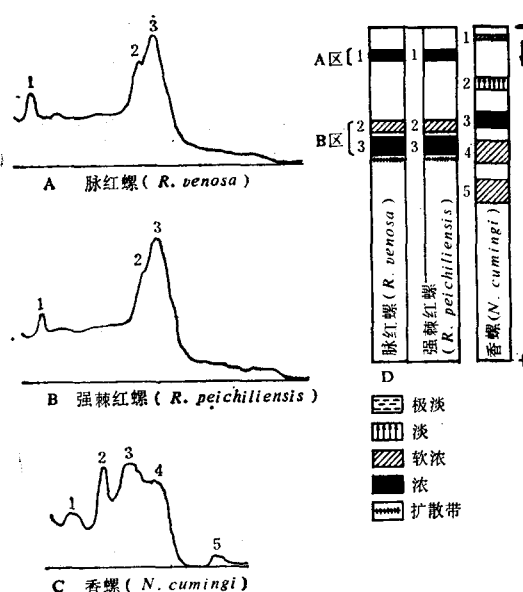


图 1 A, B, C 分别为酯酶同工酶电泳酶带扫描曲线; D 为模式酶谱

Fig. 1 A, B, C shows the scanning electropherograms of the esterase of three specimens, respectively, D is the model zymogram

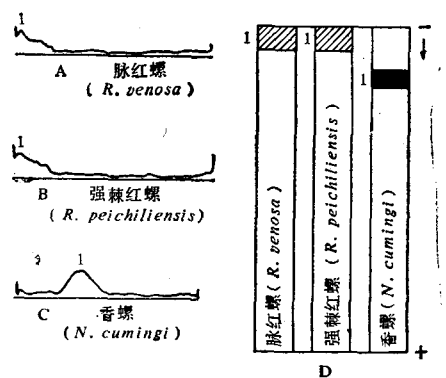


图 2 A, B, C 分别为苹果酸脱氢酶电泳酶带扫描曲线; D 为模式酶谱

Fig. 2 A, B, C shows the scanning electropherograms of the malate dehydrogenase of three specimens, respectively, D is the model zymogram

带, 但从吸收峰及染色上看, 酶含量较高(图 2 中 C, D 和表)。

(三) 过氧化物酶同工酶电泳图谱

参照扫描曲线及迁移率(图 3 中 A, B 和

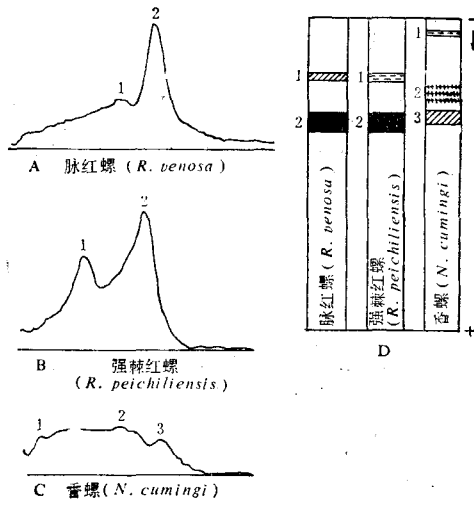


图3 A, B, C 分别为过氧化氢酶电泳酶带扫描曲线; D 为模式酶谱

Fig. 3 A, B, C shows the scanning electropherograms of the peroxidase of three specimens, respectively, D is the model zymogram

表),可见红螺组均分出2条酶带。第2条酶带颜色深浓,且吸收率及迁移率相同。而第1条酶带则稍有差异——在扫描曲线上可见两者吸收峰略有差异,这可能与不同个体的生理状态不同有关。

香螺可分离出3条酶带,每条带含量均少

于红螺组最浓的第2条带。第2条带呈强烈弥散状(图3中A, B, C, D和表)。

三、讨 论

1. 这三种酶均是螺体内代谢较为关键的酶,其变化程度可以反映种的分化。

2. 从上述结果看,骨螺科的脉红螺和“强棘红螺”三种同工酶的电泳结果完全一致,而与蛾螺科的香螺比较,同工酶间的差异则较大。

3. 李嘉泳^[2]和张福绥^[1]曾分别对脉红螺和“强棘红螺”的生殖习性、胚胎早期发育以及螺壳上棘的变化等进行过观察,未发现两种间有何质的差异。作者为了进一步探讨脉红螺与“强棘红螺”的关系,采用了上述同工酶的分析,实验结果使我们肯定脉红螺和“强棘红螺”系同一个种。从而证实了上述作者的观察和分析是正确的。

主要参考文献

- [1] 张福绥, 1980. 中国近海骨螺科的研究. III 红螺属. 海洋科学集刊 16: 113—125.
- [2] 李嘉泳, 1959. 强棘红螺的生殖和胚胎发育. 山东海洋学院学报 1: 92—130.
- [3] 汪德耀, 1982. 细胞生物学实验指导. 人民教育出版社, 第384页.

COMPARATIVE STUDIES ON THREE ISOENZYMES OF *RAPANA VENOSA* AND *R. PEICHILIENSIS* (GASTROPODA, MURICIDAE)

Cheng Jimin

(Department of Biology, Northeastern Nationalities College)

Hou Shengtao, Zhang Weimin, Hou Lin, Li Guohua and Wang Qiouyu

(Department of Biology, Northeastern Normal University)

Abstract

Using polyacrylamide gel disc and plate electrophoresis, and also contrasted by Neptunea cuning, three kinds of isoenzyme i.e. esterase, malate dehydrogenase and peroxidase from the liver of *Rapana venosa* and *R. peichiliensis* were studied respectively. It has been found that the electrophoretic patterns and the scanning curve of two former isoenzymes are entirely uniform, and deeply confirmed that in combination with the studies of reproduction and geographic distribution ever made before, *Rapana venosa* and *Rapana peichiliensis* are in same species.