

对虾组织蛋白质和同工酶表型及其在病虾中的变化

王金星 赵小凡 张红卫 于士广 刘昌彬 张文学

高守华

(山东大学生物系, 济南 250100)

提要 利用 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳和非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳对中国对虾四种组织的蛋白质、酯酶、乳酸脱氢酶和超氧化物歧化酶等同工酶进行了分析研究, 并将健康虾与流行病病虾进行了比较。结果表明, 肝胰脏和肌肉组织的蛋白质表型、肝胰脏酯酶和超氧化物歧化酶的表型在健康虾和病虾之间存在着较明显的差异。说明肝胰脏内蛋白质代谢有明显的紊乱现象。肝胰脏和肌肉的组织蛋白、肝酯酶和超氧化物歧化酶的特异性变化, 可作为虾病早期诊断的辅助指标。

关键词 中国对虾, 组织蛋白质, 同工酶, 虾病诊断

1993年, 在虾病流行期间, 我们从山东沿海部分养殖池获取了病虾, 对其组织进行了光、电镜观察, 在某些组织中发现有病毒存在, 并进行了分离纯化的研究(全文另发)。为了探讨病毒病的病理机制和开展临床诊断和防治, 同时也为对虾的生化研究积累资料, 我们对中国对虾成体组织中蛋白质及其同工酶进行了分析, 并将健康虾与病虾进行了比较。

1 材料与方法

1.1 实验动物

对虾 60 余只, 体长 8~11cm, 取自非发病区对虾养殖池, 实验室内饲养 1 周后, 确认健康无病后使用。病虾 50 余只, 一部分取自发病虾池, 一部分是用粗提病毒液感染健康虾而得到

收稿日期: 1994年4月13日

的发病个体。

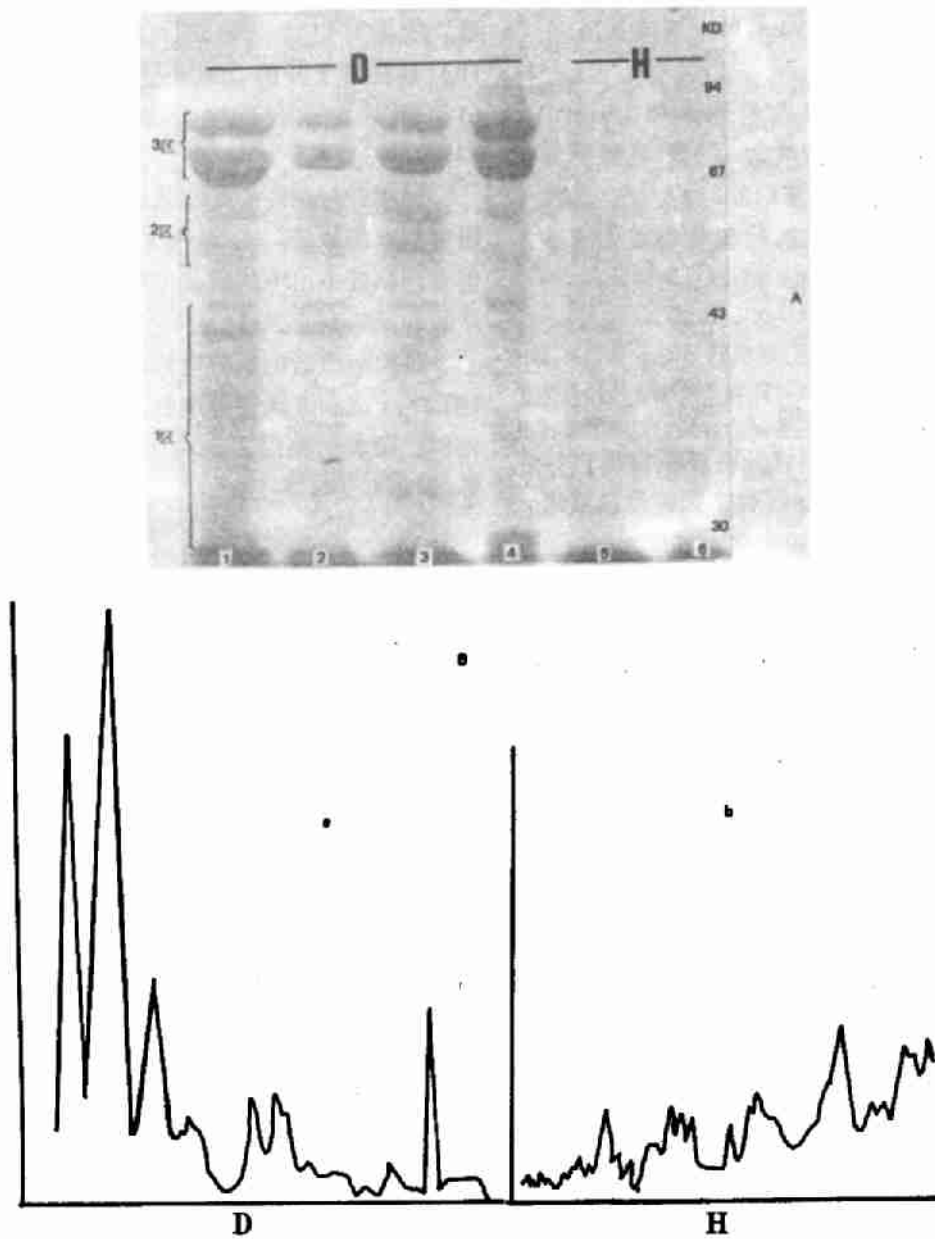


图 1 中国对虾肝胰脏蛋白质电泳图谱(A)和扫描图象(B)

1~6 示不同的个体;D: 病虾; H: 健康虾(下同)

Fig. 1 Electrophoresis (A) and scanning (B) patterns of hepatopancreas proteins from Chinese prawns

1-6 show the different specimens; H: healthy prawns; D: diseased ones

1.2 样品制备

分别取健康虾和病虾的肌肉、鳃、中肠和肝胰脏四种组织, Tris-HCl 缓冲液 (pH7.5) 内匀浆, 离心 (10 000r/min) 30min, 取上清液备用。

1.3 电泳及染色

SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳参照 Laemmli (1970) 的方法进行, 胶浓度为 10%。乳酸脱氢酶电泳及染色参照朱蓝菲 (1982) 的方法, 酯酶参照 Brewer (1970) 的方法, 超氧化物歧化酶参照 Flohé 等 (1984) 的方法。

2 结果

2.1 四种组织蛋白质表型

为了便于比较, 我们将肝胰脏蛋白质电泳图谱分为 3 区 (图 1A)。1 区和 2 区的蛋白质组

分在健康虾与病虾中基本相似。3 区为两条带, 分子量在 70~80KD。从两条带的着色深浅 (即蛋白质含量) 上看, 健康虾与病虾差异非常明显。我们对电泳谱带进行了光密度扫描 (图 1B), 并对各个峰的面积进行了积分, 3 区的蛋白质相对含量在健康虾为 22%, 而病虾为 63%。

健康虾与病虾的鳃和肠组织蛋白质的电泳图谱基本相似 (图 2)。从图 2 中可见, 鳃和肠中也有肝胰脏中出现的两条主带, 在肠组织中, 病虾的含量略高于健康虾。

肌肉组织蛋白质的电泳图谱也可分为 3 区 (图 3), 1 区和 2 区在健康虾与病虾中表型基本相似。两者的差别表现在 3 区, 病虾为 3 条主带, 健康虾为 4 条主带。

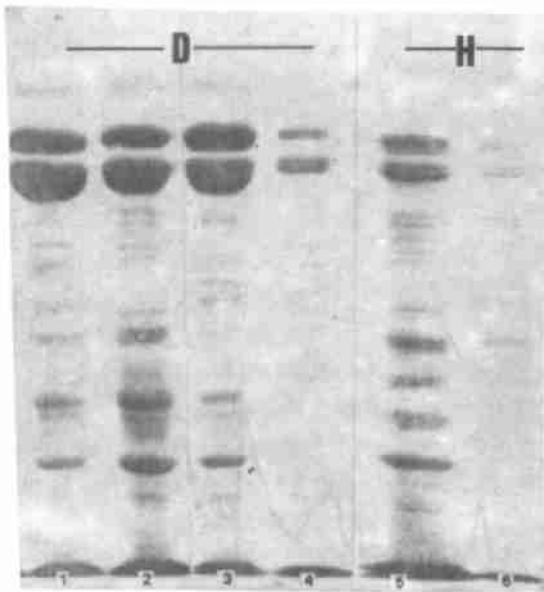


图 2 对虾鳃和肠组织蛋白电泳图谱

1,3,5 鳃组织; 2,4,6 中肠组织

Fig. 2 Electrophoresis patterns of branches and midgut proteins

1,3, and 5, branches; 2,4 and 6, midgut proteins

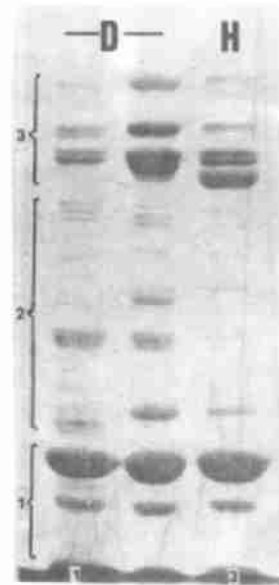


图 3 对虾肌肉组织电泳图谱

1,2. 病虾; 3. 健康虾

Fig. 3 Electrophoresis patterns of muscle proteins from prawns

1,2; diseased prawns; 3, healthy ones

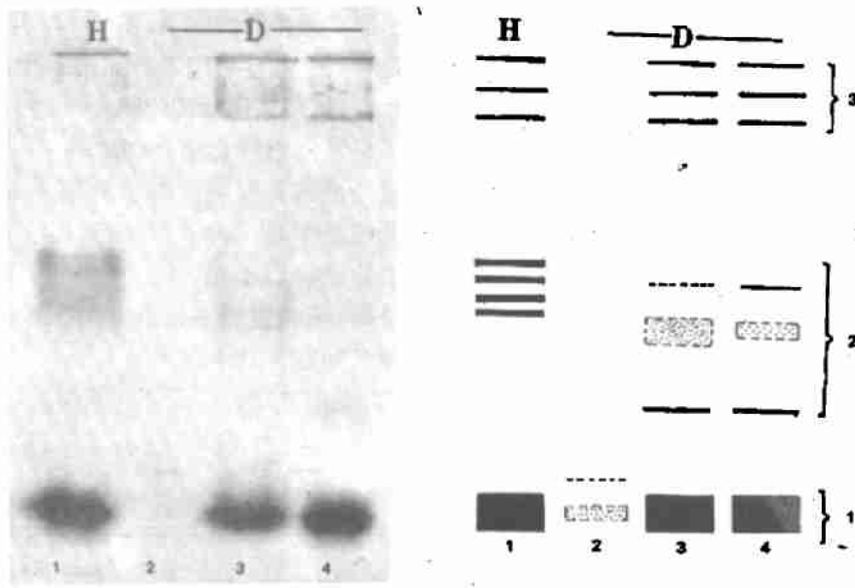


图 4 对虾肝胰脏酯酶电泳图谱

1. 健康虾; 2~4. 病虾

Fig. 4 Est patterns of hepatopancreas of prawns

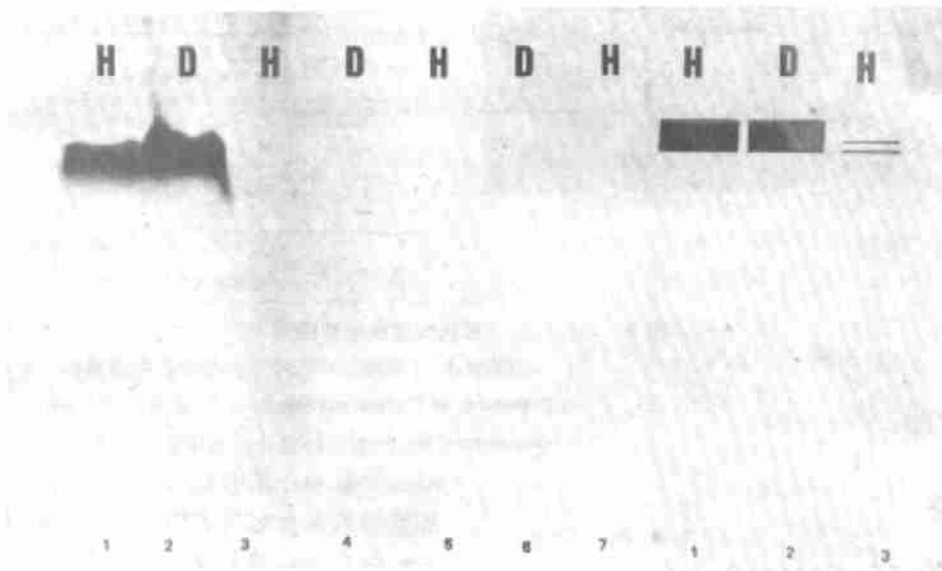


图 5 对虾乳酸脱氢酶同工酶图谱

Fig. 5 LDH patterns of four tissues from prawns

1 and 2, muscle; 3 and 4, hepatopancreas; 5 and 6, midgut; 7, branch

2.2 酯酶同工酶

酯酶(Est, E. C. 3. 1. 1. 1)在四种组织中均有分布,但以肝胰脏中活性较高。肝胰脏酯酶的带型可明显地分为3区(图4):1区为一宽大的粗带,2区带型变异较大,3区为3条带。其中1区和3区带型比较稳定,健康虾与病虾差异不明显。从图中可见,健康虾与病虾的差异表现在2区;后者酶活性下降,谱带差异亦较大。病虾感染后期,肝胰脏溃烂,酶的总活性几乎完全丧失(图4-2所示)。

2.3 乳酸脱氢酶同工酶

乳酸脱氢酶(LDH, E. C. 1. 1. 1. 27)在肌肉组织中活性较高,显示为一条带,肝胰脏组织中显示出2条微弱的带型(图5),与肌肉中的酶带位置相当。其他组织未检测到LDH的活性。

2.4 超氧化物歧化酶

超氧化物歧化酶(SOD, E. C. 1. 15. 1. 1)在对虾肝胰脏和肌肉组织中活性较高(图6)。在肝胰脏中显示为4条酶带,但在健康虾与病虾中的迁移率不同,并且在病虾中该酶活性明显增高。肌肉组织中显示为两条酶带,正常虾与病虾未见显著差异。

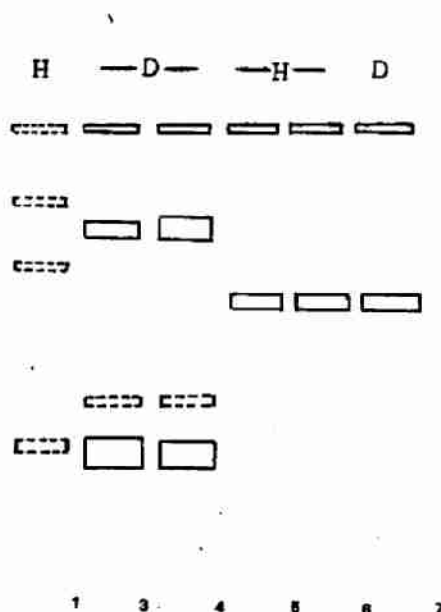
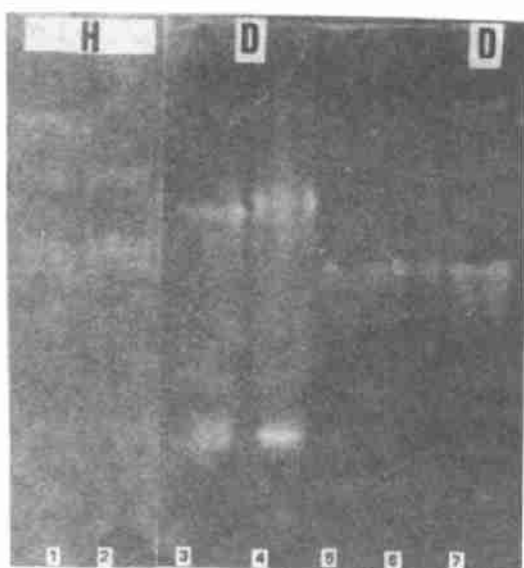


图6 对虾肝胰脏和肌肉组织电泳图谱

1~4 肝胰脏;5~7 肌肉

Fig. 6 SOD patterns of Chinese prawns

1-4 hepatopancreas, 5-7 muscle

3 讨论

我们对中国对虾四种组织的蛋白质和同工酶进行了初步分析,并将健康虾与病虾进行了比较,发现肝胰脏蛋白质、酯酶和超氧化物歧化酶的表型在两者之间差异明显。

肝胰脏蛋白质电泳图谱在健康虾与病虾中

的差异表现在量的方面。为此,我们特别注意了加样量的多少对其表型的影响。电泳前对各样品的蛋白含量进行测定,以保证各样品槽的加样量相同。为了进一步证实这种差异的存在,我们还加大了健康虾样品的加样量,所得结果也是一致的。

酯酶是脂类化合物水解的重要酶系。其作

用除维持细胞内正常的能量代谢外,还与机体的解毒作用有密切关系。病虾肝组织中蛋白质含量的变化及其酶系的紊乱,可能影响了脂类代谢的正常进行,从而使机体能量代谢失衡,解毒功能下降。从病虾的临床特征上看,肝胰脏有明显的变化,这与上面的分析是吻合的。

SOD 是广泛存在于生物体内的一种金属酶类,它催化超氧阴离子自由基(O_2^-)发生歧化反应,从而清除 O_2^- 。而 O_2^- 与动植物许多疾病的发生和形成有关。对虾受到病毒的侵袭,影响体内的正常代谢,而 SOD 在病虾体内活性增高,可能是一种应激反应。

同工酶可以反应生物体内各种变化,常用来作为病理诊断的指标。组织蛋白质变化在临床诊断中也经常使用。我们的实验证明,肝胰脏蛋白质、酯酶和超氧化物歧化酶表型变化规律

稳定,重复性好。因此可以作为虾病诊断和预防的一个生化辅助指标,应用于虾病的早期诊断。

参考文献

- [1] Dall, W. 等(陈楠生等译),1992。对虾生物学,青岛海洋大学出版社。
- [2] 朱蓝菲,1982。水生生物学集刊 7(4):539~544。
- [3] 邵健忠、项黎新、华志华等,1993。水产学报 17(3):199~208。
- [4] Brewer, G. J., 1970. An Introduction to Isozyme Techniques. Academic press, New York. 1986.
- [5] Flohé, L. and F. Ötting, 1984. Superoxide Dismutase Assays. In: Methods in Enzymology, Vol. 105, Oxygen Radicals in Biological System. (Packer, L. ed.) Academic Press, 93-104.
- [6] Leammli, U. K., 1970. *Nature* 227: 680.

PHENOTYPES OF TISSUE PROTEINS AND THREE ISOZYMES OF CHINESE PRAWNS *Panaeus chinensis* AND THEIR PATHOLOGICAL CHANGES IN DISEASED PRAWNS

Wang Jinxing Zhao Xiaofan Zhang Hongwei Yu Shiguang Liu Changbin Zhang Wenxue and Gao Shouhua
(Department of Biology, Shandong University, Jinan, 250100)

Received: Apr. 13, 1994

Key Words: *Panaeus chinensis*, tissue proteins, isozymes diagnosis of epidemic disease

Abstract

The phenotypes of tissue proteins, esterase, lactate dehydrogenase and superoxide dismutase of four tissues from healthy and diseased prawns *Panaeus chinensis* were analysed by means of SDS-PAGE and native polyacrylamid gel electrophoresis. The results show that the phenotypes of hepatopancreas proteins, Est and SOD of healthy prawns are different from those of diseased ones. It provides the biochemical evidence for the mechanism of the epidemic disease. The pathological changes of tissue proteins and two isozymes in diseased prawns are considered to be a biochemical diagnosis marker in the early stage of the disease.