

# 用同工酶法早期诊断皱纹盘鲍脓疱病的研究

李太武<sup>1</sup> 丁明进<sup>2</sup> 王世宏<sup>2</sup> 相建海<sup>3</sup> 刘瑞玉<sup>3</sup>

(<sup>1</sup> 辽宁师范大学生物系 大连 116029)

(<sup>2</sup> 大连水产养殖公司 大连 116023)

(<sup>3</sup> 中国科学院海洋研究所 青岛 266071)

关键词 皱纹盘鲍, 同工酶, 脓疱病, 早期诊断

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

健康鲍和患脓疱病的鲍(壳长 3~8cm 左右)取自大连市水产养殖公司石庙苗种厂, 太平洋海珍品养殖公司等。其中, 病鲍样品包括无明显症状(但行为异常), 有 1~2 个脓疱和具多个脓疱三类。

### 1.2 方法

将活鲍解剖, 取出足、外套膜、生殖腺、肝胰腺、消化管等五种器官, 灭菌水中冲洗后加入 4 倍体积的预冷重蒸水, 在冰浴上用玻璃匀浆器匀浆。离心, 4℃, 10,000 rpm 15 min, 弃沉淀, 上清液分装后备用<sup>[1]</sup>。

聚丙烯酰胺凝胶电泳, 浓缩胶浓度为 3.5%, 分离胶除 MDH 为 12% 外, 其余的为 7.5%。电极缓冲液为 pH 8.3 的 Tris-甘氨酸溶液<sup>[2]</sup>。

## 2 结果和讨论

同工酶的研究, 很长时间以来一直作为人类疾病的诊断手段之一, 如癌症等。为了能尽早发现患脓疱病的鲍, 以便提前采取措施治疗和隔离, 作者采用同工酶的手段, 并以健康鲍的同工酶做为标准, 与病鲍的同工酶图相比较, 建立了行之有效的监测脓疱病方法。共做了乳酸脱氢酶(LDH)、苹果酸脱氢酶(MDH)、酯酶(EST)、酸性磷酸酶(ACP)、碱性磷酸酶(AKP)、醇脱氢酶(ADH)、异柠檬酸脱氢酶(IDH)、谷氨酸脱氢酶(GLDH)等八种同工酶的研究, 但只有前四种同工酶的结果差异明

显, 故本文仅报道了这几种同工酶的实验结果。

在同工酶的研究中发现, 病鲍与健康鲍的 8、9 种同工酶都有差异, 但有的显著, 有的模糊。从鲍的 LDH 酶谱分析可见, 10 个样品中正常鲍(健康鲍)的外套膜和足及病鲍的足有谱带, 即该酶在这两个器官中有活性。这可能是由于鲍干露缺氧时, 足和外套膜要产生肌肉收缩的运动, 而这种运动需要的能量(ATP), 是由乳酸脱氢酶催化葡萄糖的无氧酵解过程提供的。病鲍的外套膜没有谱带, 但肝内此酶的含量是最高的, 正常鲍的肝内此酶没有活性。

苹果酸脱氢酶的酶谱在正常鲍和病鲍中差异明显, 主要表现在生殖腺、肝和足中, 正常亲鲍的生殖腺中各种物质代谢非常旺盛, 酶的活性很高, 而病鲍的生殖腺该酶已受到破坏, 只剩一条带, 活性也低, 是正常鲍的 1/7 左右。病鲍肝有两条带与正常鲍相似, 但却比正常鲍少一条带, 为什么会产生这种现象, 有待进一步的研究。正常鲍足有两条带而病鲍仅一条。从这三个器官比较来看, 病鲍此酶的组成和活性部分比正常鲍缺少或明显低。摄食和运动能力减弱, 导致病鲍的足萎缩, 抗病力下降, 生命力降低, 最后引起死亡。

酯酶是催化酯类化合物水解的酶系。正常鲍和病鲍足内此酶谱带相同, 但病鲍的带细小, 生殖腺、外套膜和消化道中酯酶的活性病鲍明显低于正常鲍。据电镜观察, 病鲍足内的

收稿日期: 1996 年 3 月 18 日

糖原颗粒消失, 而是肌肉收缩所需能量可能由肝糖原或肝脂来提供, 这或许说明了为什么病鲍肝内的 LDH 和 EST 活性均较正常鲍的高<sup>[3]</sup>。

酸性磷酸酶是一种核酸水解酶。此酶在上述 40 个样品中的活性不同, 但总体看来, 病鲍的五个样品中该酶的含量明显高于正常鲍, 特别是病鲍的生殖腺、肝和足中的该同工酶不仅比正常鲍带多, 而且条带也很宽, 为什么会产生这样的结果, 有待进一步研究。

经过研究发现, 出现行为异常的鲍(白天爬在波纹板上表面、足部瘦小、厌食等等)和足上出现脓疱的病鲍一样, 都可以出现明显的脓疱病特有的谱带, 经过 20 余次实验证明正常

鲍和病鲍上述 4 种同工酶的谱带非常稳定, 也就是说用上述同工酶方法可以提前 1~2 周发现脓疱病, 然后采取隔离、药浴等方法防治该病, 大大降低死亡率。

#### 参考文献

- [1] 胡能书等, 1985. 同工酶技术及其应用. 湖南科学技术出版社。
- [2] 潘家秀, 1962. 蛋白质化学研究技术. 科学出版社, 12~16.
- [3] Bowen, S. T. and G. Sterling, 1978. *Comp. Biochem. physiol.* 61 B: 593-595.

## STUDIES ON THE ISOZYME AS METHOD FOR PRE-DIAGNOSING PUSTULE DISEASE OF *Haliotis discus hannai*

Li Taiwu<sup>1</sup> Ding Mingjin<sup>2</sup> Wang Shihong<sup>2</sup> Xiang Jianhai<sup>3</sup> Liu Ruiyu<sup>3</sup>

(<sup>1</sup> Department of Biology, Liaoning normal University, Dalian 116029)

(<sup>2</sup> Aquacultural Company of Dalian, Dalian 116023)

(<sup>3</sup> Institute of Oceanology, Academia Sinica, Qingdao 266071)

Received: Mar. 18, 1996

Key Words: *Haliotis discus hannai*, Isozyme, Pustule disease, Pre-diagnosis

### Abstract

Isozyme is a very good index for pre-diagnosing Pustule disease of *Haliotis discus hannai*. The comparative study of Lactate dehydrogenase (LDH), Malate dehydrogenase (MDH), Esterase (EST) and Acid Phosphatase (ACP) between the healthy abalones and diseased ones were reported in this paper.