

花尾胡椒鲷与胡椒鲷 5 种同工酶的比较研究

曹伏君, 刘楚吾

(湛江海洋大学 水产学院 广东 湛江 524025)

摘要:采用聚丙烯酰胺垂直平板梯度凝胶电泳的方法,对花尾胡椒鲷(*Plectorhynchus cinctus*)和胡椒鲷(*Plectorhynchus pictus*) 7 种组织中的 5 种同工酶(EST, LDH, MDH, ME, POD)进行比较研究,对所研究的 5 种同工酶在 2 种鱼的组织分布、位点表达及活性作了分析和总结。结果表明,2 种鱼的 ME 同工酶谱非常相似,只在活性上略有差异;EST, LDH, MDH 和 POD 酶谱存在不同程度的种间差异,可作为花尾胡椒鲷和胡椒鲷的遗传鉴定标记。

关键词:花尾胡椒鲷(*Plectorhynchus cinctus*);胡椒鲷(*Plectorhynchus pictus*);同工酶;电泳
中图分类号: Q17 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3096(2004)01-0023-04

花尾胡椒鲷(*Plectorhynchus cinctus*)、胡椒鲷(*Plectorhynchus pictus*),均属于鲈形目、鲈亚目,石鲈科、胡椒鲷属(*Plectorhynchus*)^[1],盛产于南海北部湾一带,是我国重要经济鱼类。2 种鱼外形上非常相似,最大的区别是花尾胡椒鲷体侧有黑色斜带 3 条,胡椒鲷一般不具有。80 年代以后,同工酶的研究已在种质资源、遗传育种、系统演化、遗传标记乃至环境保护等方面已得到广泛的应用,但海水鱼同工酶的研究较少^[2],本文研究的 2 种鱼同工酶在国内外均无报道。本文报道 2 种海水重要增殖殖鱼同工酶表达的组织特异性,为反映这些鱼类遗传背景的同工酶电泳提供一些基本参数。

1 材料与方 法

2002 年 1~3 月,从广东湛江市东风市场养殖网箱中收集胡椒鲷、花尾胡椒鲷活鱼各 15 尾,体质量为 400~500 g。经形态学鉴定,活体放血后,取肝、肾、脾、成熟性腺、心脏、肌肉、脑等 7 种组织,用 0.1 mol/L 的磷酸缓冲液冲洗干净,冰浴匀浆。4℃下 15 000 r/min 离心 40 min,上清液保存于 -20℃冷箱备用。

采用聚丙烯酰胺垂直平板梯度凝胶电泳对各种组织的同工酶进行了电泳研究,凝胶浓度为 4%~25%,TVB 凝胶缓冲液^[3]。电泳酶谱分析参考姜建国^[4]的方法,染色参见何忠效^[5]的方法并略加改动。酶谱命名方法:基因位点(Genelocus),越靠近阳极的位点

以越小的数字表示,例如:EST-1, EST-2,等位基因(Allele),越靠近阳极的等位基因以越前面的字母(a, b, c...)表示,例如:EST-1:a, EST-1:b 等。

2 结果

2 种鱼 5 种同工酶在 7 种组织中的分布和活性见表 1。

2.1 酯酶 EST[EC3.1.1.1]

所有鱼类的 EST 为单体酶,由 3 个位点编码,即 EST-1, EST-2 和 EST-3 等 3 个位点^[6]。本实验结果显示:EST-1 为杂合子,编码形成二条带。EST-1 在花尾胡椒鲷的 7 种组织中均有表达;EST-1 只在胡椒鲷中的肝脏、肌肉、性腺中表达,其它组织无活性,说明 EST-1 在 2 种鱼组织中间差别明显。EST-2 为杂合子,在 2 种鱼的 6 种组织中均有表达,且酶带活性最强,只是肌肉中没有活性;EST-3 为杂合子,在 2 种鱼的 7 种组织中均有相似表达,但在花尾胡椒鲷组织中只有一条酶带。花尾胡椒鲷组织中 EST 的电

收稿日期:2002-09-18 修回日期:2003-05-18

基金项目:广东省重大科技兴海项目 A200099A01

作者简介:曹伏君(1967-),女,湖南湘潭市人,硕士,副教授,研究方向:发育生物学, E-mail:1994516@163.com

表 1 2 种鱼 5 种同工酶在 7 种组织的分布和活性比较

Tab.1 Activities comparison of 5 isozymes and distribution in 7 tissues of 2 fishes

酶	亚基结构	位点	花尾胡椒鲷							胡椒鲷						
			肝	肾	脾	肌肉	心脏	性腺	脑	肝	肾	脾	肌肉	心脏	性腺	脑
EST	单体	1	++	-	-	++	-	+	-	-	++	+	++	++	++	
		2	+++	+++	+++	-	++++	++++	++++	++++	++++	+	++++	++++	+	
		3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	++	+	++	++	
LDH	四聚体	1	-	-	-	-	-	-	++	-	-	-	-	-	-	
		2	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+++	++	++	++	
		3	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	
ME	四聚体	1	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	++	
		2	-	-	++	+	+	+	-	-	-	++	++	++	+	
		3	+	++	++	-	++	++	++	+	+++	++	+	++	+++	
MDH	二聚体	1	++	++	+	++	+++	++	+	+	+	++	+	+	+	
		2	++	++	+	++	+++	++	+	+	++	+	-	+	+	
POD	二聚体	1	+	+	+++	++	-	+	+	+	+	++	++	+	-	

注:+++ 活性强,++ 活性较强,+ 活性弱,- 无活性。

泳迁移率明显高于胡椒鲷组织。

2.2 乳酸脱氢酶(LDH)[EC1.1.1.27]

已经证明鱼类 LDH 为四聚体酶,一般由 2~3 个基因座位编码,LDH-1、LDH-2 位点存在于各组织中,LDH-3 位点只局限于特定的组织如某些鱼类肝脏、眼睛,其编码的蛋白质电荷与另两个位点不同^[3,7]。LDH 同工酶 A 和 B 亚基的结合受到限制的现象在鱼类特别是海水鱼类中是较为普遍的现象,即 A、B 两亚基不能随机结合产生 5 种四聚体同工酶^[8]。本实验结果显示,只在胡椒鲷中脑组织表现为典型的 5 条酶带(A、B 两亚基聚合成的 A₄、A₃B、A₂B₂、AB₃、B₄ 5 种四聚体),在花尾胡椒鲷脑组织仅具有一条酶带,表达活性差异明显;其它组织只具有一或二条酶带。在胡椒鲷的肌肉、花尾胡椒鲷的心脏中均明显有一浓带趋于阳极,这可能是 LDH-3 位点表达的酶带;在 2 种鱼的其它组织中 LDH-3 位点均没有表达。

2.3 苹果酸酶(ME)[EC1.4.1.2]

鱼类的 ME 同工酶为四聚体,由 3 个位点编码^[5]。ME-1 基因座位仅在 2 种鱼的脑中表达;ME-2 在 2 种鱼的肝脏、肾脏组织中没有表达;ME-3 在 2 种鱼的 7 种组织中均有比较明显的酶带,酶的表达情况几

乎没有差别,只在活性上略有差异。

2.4 苹果酸脱氢酶(MDH)[EC1.1.1.37]

鱼类的 MDH 为二聚体,由 2 个位点 MDH-1、MDH-2 编码^[7],有线粒体型(m-MDH)和上清液型(s-MDH)2 种。本实验分析的 2 种鱼 MDH 同工酶均为 s-MDH 型,在 7 种组织均有表达。MDH 酶谱在这 2 种鱼的 6 种组织中非常相似,只是酶的活性有差别,在胡椒鲷的心脏组织中,只有一条酶带,显然属于 MDH-2 位点。花尾胡椒鲷的心脏中 MDH 的酶带多,由 MDH-1、MDH-2 编码形成 6 条酶带,表达活性明显高于胡椒鲷的。

2.5 过氧化物酶(POD)[EC1.11.1.7]

POD 均为一个位点所编码,在胡椒鲷中的脑组织和花尾胡椒鲷的心脏中没有表达,在其它组织都有一条明显的酶带存在,但表达活性有显著差异。胡椒鲷脾脏的酶活性明显高于花尾胡椒鲷脾脏,最特别的是在花尾胡椒鲷脾脏中还检测到一条杂合带;POD 酶带在胡椒鲷心脏中有明显表达,但在花尾胡椒鲷心脏中没有表达。

研究结果总结了 2 种鱼 5 种同工酶在 7 种组织的分布、活性及位点表达情况。可以看出,2 种鱼的同

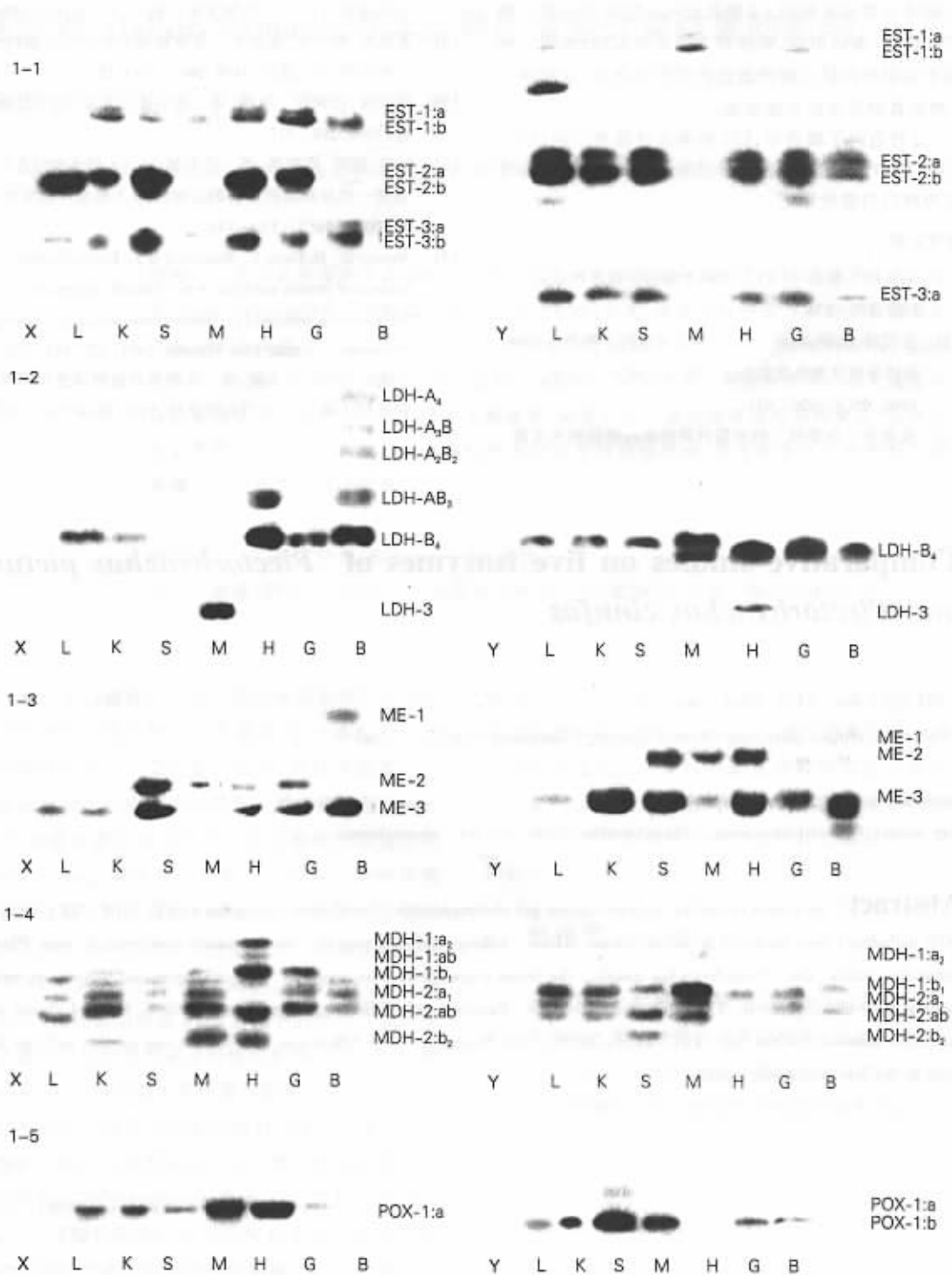


图 1 2种海水鱼 5种同工酶的电泳图谱

Fig. 1 Electrophoretic patterns of five isozymes of *Plectorhynchus pictus* and *Plectorhynchus cinifus*
 1-1 酯酶同工酶(EST) ;1-2 乳酸脱氢酶(LDH) ;1-3 苹果酸酶(ME) ;1-4 苹果酸脱氢酶(MDH) ;1-5 过氧化物酶(POD)
 X, 胡椒鲷 ;Y, 花尾胡椒鲷 ;L, 肝 ;K, 肾 ;S, 脾 ;M, 肌肉 ;H, 心脏 ;G, 性腺 ;B, 脑

工酶谱表型非常相似,2种鱼在同一组织中的同工酶存在位点、表达形态、活性等方面是类似的,而同一种鱼不同组织间同工酶的表达差异要大得多。这反映了2种鱼具有很近的亲缘关系。

2种鱼同工酶谱中,EST的电泳迁移率不同,EST、LDH、MDH、POD等的表达带型和活性不同,这些酶可作为种内的遗传标记。

参考文献:

- [1] 孟庆闻. 鱼类学[M]. 上海:上海科学技术出版社, 1987. 270-274.
- [2] 王可玲, 尤锋, 徐成, 等. 5种海水鱼同工酶表达的组织特异性及其电泳的初步分析[J]. 海洋与湖沼, 1996, 27(6): 626-631.
- [3] 朱蓝菲. 鱼类同工酶和蛋白质的聚丙烯酰胺梯度凝

胶电泳法[J]. 水生生物学报, 1992, 16(2): 183-185.

- [4] 姜建国, 熊全沫, 姚汝华. 青草鲢鳙四种鱼同工酶的比较研究[J]. 遗传, 1998, 20(2): 19-22.
- [5] 何忠效, 张树政. 电泳(第二版)[M]. 北京: 科学出版社, 1999. 284-312.
- [6] 叶星, 谢刚, 许淑英, 等. 广东鲂(♀) × 团头鲂(♂) 杂交一代及双亲同工酶的比较[J]. 上海水产大学学报, 2001, 10(2): 132-140.
- [7] Martiez G, McEwen Y, Mcandrew B J. Electrophoretic analysis of protein variation in two Spanish population of the European seabass[J]. *Dicentrarchus labrax* L. (Pisces Moronidae). *Aquac Fish Manage*, 1991, 22: 443-455.
- [8] 全成干, 王军, 丁少雄, 等. 大黄鱼养殖群体遗传多样性的同工酶[J]. 厦门大学学报, 1999, 38(4): 584-588.

Comparative studies on five isozymes of *Plectorhynchus pictus* and *Plectorhynchus cinufus*

CAO Fu-jun, LIU Chu-wu

(Fisheries College, Zhanjiang Ocean University, Zhanjiang 524025, China)

Received: Sep., 18, 2002

Key words: *Plectorhynchus pictus*; *Plectorhynchus cinufus*; isozyme; electrophoresis

Abstract: By means of vertical polyacrylamide gel electrophoresis, five different isozymes (EST, LDH, ME, MDH, POD including) were analysed in seven tissues (liver, kidney, splene, muscle, heart, gonads and brain,) from *Plectorhynchus pictus* and *Plectorhynchus cinufus*, the tissue-specificity were analyzed, the gene expression patterns of each isozyme were also discussed. The results indicated that: Except a little difference in isozyme activities, ME had almost no difference between the two fish. EST, LDH, MDH, POD displayed some differences between the two species and can be used as the species genetic mark.

(本文编辑: 刘珊珊)