

# 三种鰕虎亚目鱼类肌浆蛋白的比较研究

李 政, 李明云, 张海琪

(宁波大学 生命科学与生物工程学院, 浙江 宁波 315211)

**摘要:** 2002年4月在浙江宁波随机采集了弹涂鱼(*Periophthalmus*)、大弹涂鱼(*Bolteophthalmus chinensis*)和杂色鰕虎鱼(*Gobius poecilichthys* Jord and Snyder)样本。采用垂直聚丙烯酰胺凝胶电泳的方法,对3种鱼肌浆蛋白(Pm)从分类角度进行研究比较。结果表明:3种鱼肌浆蛋白图谱有明显的差异,大弹涂鱼与弹涂鱼间的相似系数最大(0.429),而杂色鰕虎鱼与大弹涂鱼、杂色鰕虎鱼与弹涂鱼的相似系数相对小些,分别为0.267和0.400,说明大弹涂鱼与弹涂鱼的亲缘关系更近。

**关键词:** 弹涂鱼(*Periophthalmus*); 大弹涂鱼(*Bolteophthalmus chinensis*); 杂色鰕虎鱼(*Gobius poecilichthys* Jord and Snyder); 电泳; 肌浆蛋白

**中图分类号:** S913.5; Q51; Q95 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3096(2004)04-0040-03

大弹涂鱼(*Bolteophthalmus chinensis*)主要分布在长江口以南沿海各省,是一种名特优经济鱼类。弹涂鱼(*Periophthalmus*)又名花跳,泥猴。大小弹涂鱼与杂色鰕虎鱼(*Gobius poecilichthys* Jord and Snyder)同属鰕虎亚目,在外形特征、生活习性等方面具有很大相似性,较难在外型上区分<sup>[1]</sup>。

我国有关这几种鱼的研究尚不多。张其永等报道了大弹涂鱼的摄食消化、年龄生长、性腺发育以及人工育苗技术<sup>[2]</sup>;王军等对3种弹涂鱼的生化组成及能值分析进行比较研究<sup>[3]</sup>;冯涛等研究了苯并(a)芘对大弹涂鱼肝脏抗氧化防御系统影响<sup>[4]</sup>。作者采用电泳方法对3种鱼的肌浆蛋白(Pm)进行比较研究,以期丰富我国海水鱼类生化遗传资料,并为今后开展大弹涂鱼的种质资源和遗传多样性研究奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

样本于2002年3月至4月购自宁波月湖农贸市场。采用充氧袋充氧运回实验室,暂养数日或当天即进行取样。

### 1.2 电泳样品制备

每尾鱼经形态学测量鉴定后,取肌肉用双蒸水冲洗干净,滤纸吸干水分,在超低温冰箱-70℃中保存至分析。称取肌肉(约0.5g)放入研钵中,加入2~3倍体积0.1mol/L的PBS(pH=7.0)在冰浴中研磨。匀浆液抽提后在台式高速冷冻离心机中4℃,14000r/min离心20min。移取上清液,加等体积的溴酚蓝缓冲液,分装到0.5mL离心管中,保存于-70℃超低温冰箱中。

### 1.3 电泳方法

采用垂直板状聚丙烯酰胺凝胶电泳。分离胶凝胶度7.5%,交联度为4.76%;浓缩胶凝胶度3.125%,交联度为20%。电极缓冲液为TG(6g Tris;28.8g 甘氨酸;1000mL蒸馏水,pH=8.3)。在制胶板的模具中分别灌注及聚合分离胶和浓缩胶,并插入梳子制

收稿日期:2002-12-16;修回日期:2002-04-11

作者简介:李政(1980-),男(苗族),湖南绥县人,硕士,主要从事水产养殖动植物病害防治,E-mail:NBU\_LIZHENG@163.COM;李明云,通讯作者,教授,E-mail:limingyun@nbip.net.cn,电话:0574-87210833,13805880334

备点样孔，点样量 30 μL。采用恒压电泳方法，在浓缩胶电泳时，电压大小为 120 V，电泳进行入分离胶后，升高电压至 200 V，整个电泳过程均在 4 °C 冰箱中进行，电泳后染色。

1.4 显色

染色方法参考文献[5]的方法，用 5% 氨基黑及等体积的 5% 冰醋酸进行染色，于 37°C 恒温培养箱中避光显色过夜。显色结束后，采用 5% 冰醋酸褪色。褪色结束后，将凝胶放入固定液中(乙醇 / 冰醋酸 / 甘油 / 水 = 3/1/1/5) 固定。

1.5 结果计算

按照酶带迁移的距离和染色深度，利用福日生物凝胶成像系统观察，扫描成像储存于电脑中。分别按下列公式计算出电泳图谱中各蛋白区带的相对迁移率及每两个种间迁移率相似系数<sup>[6]</sup>。

$$\text{相对迁移率}(R_r) = \frac{\text{蛋白区带到原点的距离}}{\text{染料指示剂到原点的距离}}$$

$$\text{迁移率相似系数}(S_m) = \frac{\text{具有相同迁移率的带的数目} \times 2}{\text{对比的一对样品出现区带的总数}}$$

2 结果与分析

肌浆蛋白为一群小分子的蛋白质，每一区代表着几种蛋白。图 1 显示了 3 种鱼肌浆蛋白电泳图谱。从图 1 中可见，大弹涂鱼有 7 条带，其中有 1 条靠近正极的强带；弹涂鱼也有 7 条带，也有 1 条

靠近正极但迁移率与大弹涂鱼不同的强带；而杂色鳊虎鱼则有 8 条带，其中强带有 3 条。各种鱼的酶带数目及各酶带的迁移率列于表 1。3 种鱼类的肌浆蛋白电泳图谱显示出明显的种间差异，而同种鱼各个体间未见有差异，说明种内差异不显著。说明肌浆蛋白是进行鱼类分类鉴别的一个良好指标。

表 2 列出了三种鱼之间的相似系数。大弹涂鱼与弹涂鱼间的相似系数为 0.429，杂色鳊虎鱼与大弹涂鱼、杂色鳊虎鱼与弹涂鱼的相似系数分别为 0.267 和 0.400。说明大弹涂鱼与弹涂鱼的亲缘关系更近。

表 1 鱼肌浆蛋白区带的数目及  $R_r$

Tab.1 Numbers and  $R_r$  of myogen band in three marine fishes

区带数目	$R_r$		
	杂色鳊虎鱼	大弹涂鱼	弹涂鱼
1	0.12	0.14	0.08
2	0.28	0.21	0.14
3	0.39	0.31	0.31
4	0.42	0.39	0.35
5	0.54	0.49	0.42
6	0.63	0.54	0.54
7	0.74	0.78	0.63
8	0.76		

表 2 三种鱼间肌浆蛋白  $S_m$  矩阵

Tab.2  $S_m$  matrix of myogen in three marine fishes

种类	$S_m$		
	杂色鳊虎鱼	大弹涂鱼	弹涂鱼
杂色鳊虎鱼		0.267	0.400
大弹涂鱼			0.429
弹涂鱼			

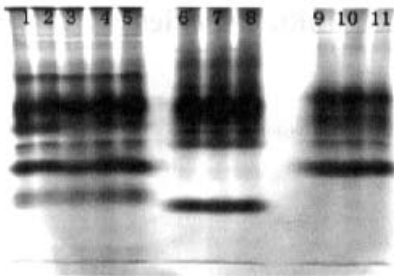


图 1 3 种鱼肌浆蛋白的电泳图谱

Fig.1 Electrophoresis patterns of myogen in three marine fishes

1~5 为杂色鳊虎鱼; 6~8 为大弹涂鱼; 9~11 为弹涂鱼

1~5 *Gobius poecilichthys*; 6~8 *Bolteophthalmus chinensis*; 9~11 *Periophthalmus*

3 讨论

肌浆蛋白为一群小分子的蛋白质，每一区代表着几种蛋白。作为横纹肌肌浆的提取物，

其电泳产物区带多而清晰, 种内差异不明显, 且表现形式稳定, 而种间差异是非常显著的<sup>[7]</sup>。这种在种间和种内的变异形式和幅度上所体现的特异性, 可以被广泛应用于系统分类, 物种的起源与演化、基因连锁分析及基因作图、杂交育种、物种及杂种鉴定、种质资源考察、原物种种群间的基因流动以及生物多样性研究等领域。

关于鱼类肌浆蛋白的研究, Yamaoka 等在研究蛇鲻的遗传分化时得出蛇鲻的肌浆蛋白具有种间差异, 而无种内变异<sup>[8]</sup>; 刘静等对中国鲷属鱼类的肌浆蛋白酶研究表明, 同种鱼的 Pm 酶谱完全相同, 不存在个体间差异, 但有明显的种间差异<sup>[9]</sup>。王可玲等研究发现舟山近海带鱼的肌浆蛋白酶存在个体变化, 带鱼肌浆蛋白的特性与鱼体长度有关, 而与性别和性腺成熟度无明显关系<sup>[10]</sup>。所有这些都表明, 肌浆蛋白具有种的特异性, 是进行鱼类生化分类的较好指标。同时, 在理论上, 同一种生物体对于某一种蛋白质来讲, 具有稳定的遗传表达的潜能, 但这种潜能并不一定在生物体的整个生命过程中都能稳定实现。因此对于与肌浆蛋白对应的基因, 在基因表达的时间和空间上的调控机制, 还有待更进一步的研究。

该研究根据蛋白质电泳结果得出同科鱼类大弹涂鱼与弹涂鱼的相似率为最大(0.429), 而不同科的大弹涂鱼与杂色鰕虎鱼及弹涂鱼与杂色鰕虎鱼的相似

率要低些, 分别为 0.267 和 0.400。这与传统的形态学分类是相一致的, 同时也说明采用蛋白质电泳来探讨种间在进化上的亲缘关系是一个很有效的手段。

#### 参考文献:

- [1] 王以康. 鱼类分类学[M]. 上海: 上海科技出版社, 1960. 462-486.
- [2] 洪万树, 张其永. 大弹涂鱼规模化养殖技术[J]. 水产养殖, 1995(5):8-9.
- [3] 王军, 苏永全. 三种弹涂鱼的生化组成及能值分析[J]. 厦门大学学报, 1994,33(1):96-99.
- [4] 马涛, 郑微方, 洪万树, 等. 苯并(a)芘对大弹涂鱼肝脏谷胱甘肽过氧化物酶活性的影响[J]. 中国水产科学, 2000,7(4):19-21.
- [5] 李思发. 团头鲂种群间的形态差异和生化遗传差异[J]. 水产学报, 1991(3):204-210.
- [6] 杨明, 马纯艳, 彭霞. 四种竹蛭肌浆蛋白的电泳分析[J]. 沈阳师范学院学报, 2000,18(3):40-43.
- [7] 杨幼凤, 卢浩泉. 蛋白质电泳在动物分类学中的应用[J]. 动物学杂志, 1988,23(3):46-49.
- [8] Kosaku Y. Genetic divergence in Lizard fishes of the Genus *Saurida* from Southern Japan[J]. *Japanese Journal of Ichthyology*, 36(2):208-219.
- [9] 刘静, 尤锋, 李春生. 中国鲷属鱼类同工酶谱分析[J]. 海洋科学, 1999(5):31-35.
- [10] 王可玲. 舟山近海带鱼与小带鱼 PM、LDH 和肝 EST 的变化[A]. 中国鱼类学会. 鱼类学论文集(3) [C]. 北京: 科学出版社, 1983. 41-46.

## Comparative study on myogen in three gobiidae species

LI Zheng, LI Ming-yun, ZHANG Hai-qi

(College of Life Sciences and Biotechnology, Ningbo University, Ningbo 315211, China)

Received: Dec., 16, 2002

**Key words:** *Periophthalmus*; *Boleophthalmus chinensis*; *Gobius poecilichthys*; electrophoresis; myogen

**Abstract:** The expression of myogen in *Boleophthalmus chinensis*, *Periophthalmus* and *Gobius poecilichthys* were compared by polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) in Ningbo (July 2002). Results showed, obvious variance among electrophograms.  $S_m$  of *Boleophthalmus chinensis* and *Periophthalmus* was the largest (0.429),  $S_m$  of *Boleophthalmus chinensis* and *Gobius poecilichthys* was 0.267 while the  $S_m$  of *Periophthalmus* and *Gobius poecilichthys* was 0.400. These results show the close relationship between *Periophthalmus* and *Boleophthalmus chinensis*.

(本文编辑: 刘珊珊)