

三种育珠蚌酯酶同功酶的初步研究

孙家美

(中国科学技术大学生物系,合肥 230027)

钱万英 谢惠安 黄曙光

(安徽大学)

摘要 本文采用超薄层聚丙烯酰胺凝胶电泳法及 FSZ-A 凝胶电泳扫描器,以研究三种育珠蚌的外套膜边缘膜、斧足以及后闭壳肌中酯酶同功酶的差异性。经测试后发现:异种育珠蚌之间,三种器官中酯酶酶带总数存在着种间差异性;同种蚌(或同一个体)的不同器官之间,存在着器官间的差异性;异种蚌的同种器官之间,也存在着种间差异性。这些差异性,其根本原因,是由基因之间的差异性引起的。也就是说,基因之间的差异性,直接影响或决定了本文中各器官内酯酶同功酶酶谱之间的差异性。

我国蚌资源十分丰富,分布也较广。目前我国常用来培育珍珠的蚌约有十多种。在珍珠生产上,安徽省使用较多或分布较广的蚌是三角帆蚌 (*Hyriopsis cumingii*)、褶纹冠蚌 (*Cristaria plicata*) 和背角无齿蚌 (*Anodonta woodiana*)。这三种育珠蚌。在外部形态和珍珠外表面或质量上均有明显的差异,但在同功酶方面,它们之间是否也有差异,则未见报道。

1989年3月至6月,我们采用“聚丙烯酰胺凝胶电泳”^[1]对它们进行了酯酶同功酶的检测,并分别获得了它们各自的酶谱。现将初步研究结果报告如下。

一、材料和方法

(一) 材料

三角帆蚌、褶纹冠蚌和背角无齿蚌均取自安徽省贵池市。

(二) 方法

1. 取材与制样^[1]在三种蚌中,每种蚌均在三个部位分别取出新鲜的外套膜边缘膜、斧足及后闭壳肌。而后,又分别用滤纸吸干在这些材料(样品)表面的水分。每种材料,各称 0.5克活组织,剪碎,加入等量的 TBH 浸提液(取 Tris-H₃BO₄-EDTA 各 0.1M,等量混合),4℃保持 24 小时。以后,再分别用石英砂将各种材料一一研磨成糊状,立即离心,取出上清液,分别置于冰箱(4℃)中保存备用。

本实验重复 3 次。3 次实验之间都有间隔。每做一次实验,均用三种蚌,每种蚌各用 1 只,计用 3 只蚌。重复 3 次,计用 9 只蚌。每种蚌(或每只蚌)均在 3 个不同部位分别取出三种材料,而后,对这三种材料(各种蚌的三种材料均一一分开,不混合)又分别进行样品预处理以及最后放在低温(4℃)条件下保存备用。

为避免人为因素造成的误差,因此,每做一次实验,各材料均取自同一批来的三种蚌。此外,从产地取来的三种蚌,均暂养在中国科学技术大学校园内生态条件一致的同一个池塘中。

2. 单体贮液的制备与制胶 取 29.1克丙烯

酰胺 (Acr) 和 0.9 克甲撑双丙烯胺 (Bis), 溶于 100 毫升容量瓶中, 保存备用。

以后, 依次加入单体贮液、两性载体 Ampholine、蒸馏水、TEMED 及 5% 过硫酸铵(室温下放置 1 小时), 制成超薄层凝胶板。

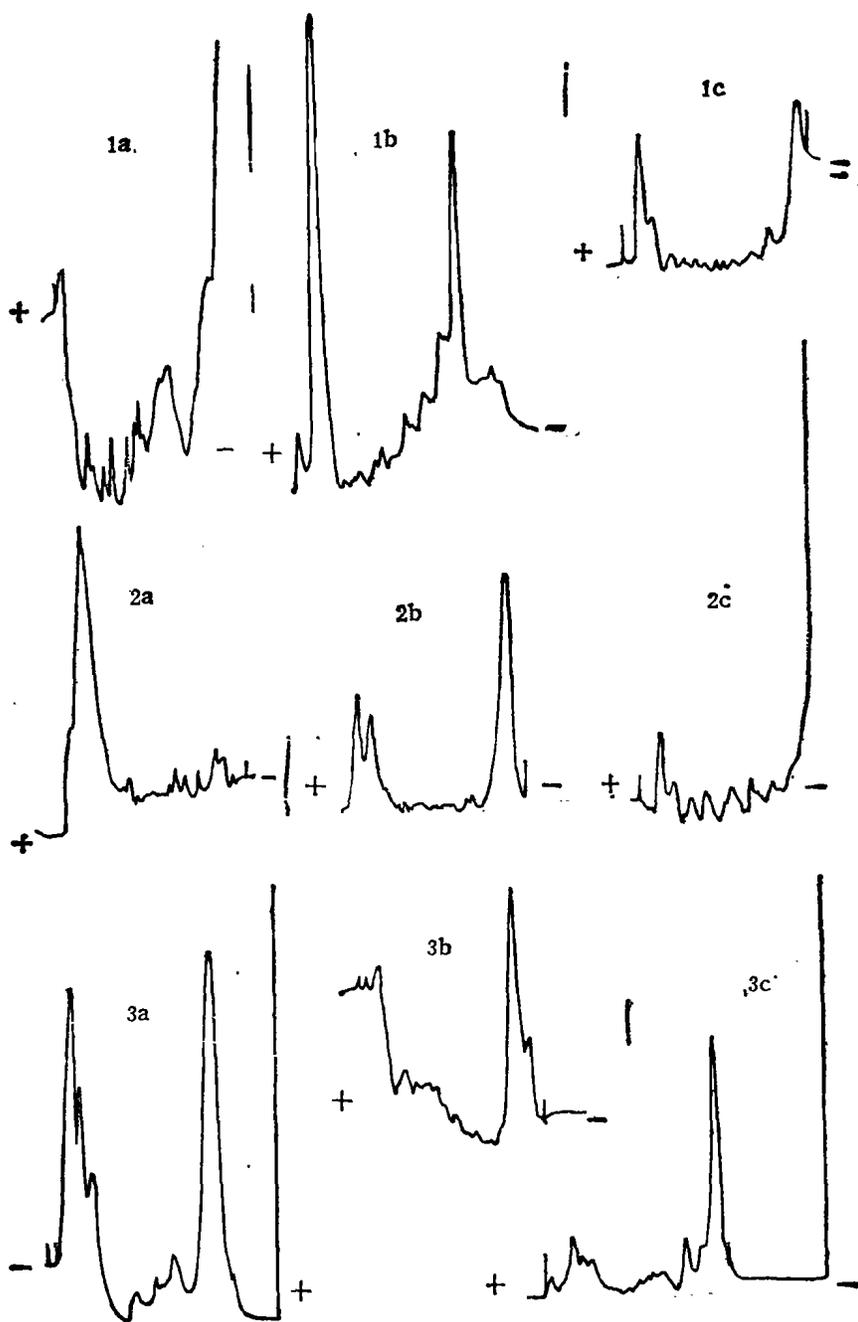


图1 外套膜边缘膜的酯酶同工酶; 图2 斧足的酯酶同工酶; 图3 后闭壳肌的酯酶同工酶
 a. 三角帆蚌 b. 褶纹冠蚌 c. 背角无齿蚌

3. 加样与电泳 每种样品均做酯酶,共做3块电泳板。电极液(正极—— $1\text{mol/L H}_3\text{PO}_4$;负极—— 1mol/L NaOH)。

先恒电流 4mA 、 6mA , 然后恒电压 240V 、 500V , 电泳时间 4 小时。

4. 染色^[2]采用特异性的酯酶染色液染色。酯酶染色液的配方: 称取 α -萘酯醋酸 40 毫克和 β -萘酯醋酸 40 毫克, 溶于 5 毫升丙酮中, 再加入坚牢蓝 RR40 毫克, 待溶解后, 倒入 45 毫升酯酶染色缓冲液中, 37°C 温育 40 分钟, 出现棕色酶带, 水洗后倒入固定液中。

5. 固定与照像 染色后的凝胶平板, 放入固定液^[2]中固定, 第 2 天照像并观察酶带, 然后绘制同功酶谱图。

6. 记录 用 FSZ-A 凝胶电泳扫描器扫描的图谱(见图 1—3)。

二、结果和讨论

不同种的蚌, 其酯酶酶带总数各不相同。由此表明, 物种之间有差异性见下表:

三种育珠蚌酯酶酶带数量比较

育珠蚌 名称	各部位酯酶酶带数(条)			酯酶酶带 总数 (条)
	外套膜边缘膜	斧足	后闭壳肌	
三角帆蚌	10	6	8	24
褶纹冠蚌	9	3	6	18
背角无齿蚌	10	10	15	35

同种蚌或同一只蚌, 由于部位(或器官)不同, 其酯酶酶带数量也各不相同。由此表明, 同一物种(或同一个体)的不同部位之间也有差异性。

(上接第 28 页)

生理活动有关。

(四) 冬眠前雌性组肝脏和脂肪体的平均重量均大于雄性组。与体重相比, 雌性组平均肝重占体重的 6.1% , 脂肪体占体重的 2.5% ; 而雄性组平均肝重只占体重的 4.33% , 脂肪体占体重的 1.78% 。说明无蹼壁虎冬眠前在营养物质的积贮量存在性别差异。

同类部位(比如斧足), 由于蚌的种类不同, 其酯酶酶带数量也不一致。此外, 又比如斧足, 由于物种的不同, 不同种的斧足内各个酯酶酶带的位置也不一致。这表明, 由于物种的不同, 在相同部位之间也存在着差异性。这种差异性是同种间差异性的一种表现形式。

这三种蚌的同类部位(比如斧足), 其外部形态相似, 功能相同, 但它们各自的同功酶的酶谱既不相似, 也不相同。或者说, 宏观上相似, 但在分子水平上则相异。进一步地讲(或从本质上讲), 这种“异”, 实质上是反映了不同种的蚌, 在遗传物质的结构上存在着差异性。

前面已提到, 在同一个体的不同器官(或部位)之间, 其酯酶同功酶酶谱也出现了差别, 这是什么原因呢? 对于这一问题, 我们认为, 同一个体的不同器官, 它们各自的外部形态、内部结构和生理功能, 都是各不相同的。这些差别, 都是受不同的基因控制决定的。在解剖学(宏观)上与组织学(微观)上所出现的形态特征上的差别, 那只是不同基因表达的最终结果, 而在同功酶酶谱上所出现的差别, 这乃是不同基因在分子水平上的表达。因此, 基因之间的差异性是根本的, 由此, 它们直接反映或决定了各器官之间在同功酶酶谱上的差异性, 进一步反映或决定了各器官之间在形态与功能上的差异性。

参 考 文 献

- [1] 中山大学生物系生化微生物教研室编 1979 生化技术导论 241—244 人民教育出版社。
- [2] 汪德耀编 1981 细胞生物学实验指导 377—384 人民教育出版社。
- [3] 吴少伯 1979 植物组织中蛋白质及同功酶的聚丙烯酰胺凝胶盘状电泳 植物生理学通讯 (1): 30—32。

参 考 文 献

- [1] 邹寿昌 1979 徐州无蹼壁虎的初步研究。动物学杂志 (4): 24—26。
- [2] —— 1985 大蟾蜍冬眠时的肥满度及部分内脏器官的变化 两栖爬行动物学报 4(4): 320—324。
- [3] —— 1988 花背蟾蜍冬眠期肥满度及部分内脏器官的变化 四川动物 7(3): 34—35。
- [4] 吴云龙 1965 黑斑蛙自然冬眠时肥满度及部分内脏器官变化 动物学杂志 7(3): 116—119。
- [5] Pope, C.H. 1935 The reptiles of China.