

东方铃蟾与中华大蟾蜍肌组织钙激活 ATP 酶活性的比较研究

郑元林 刘德岷* 陈才法 邹寿昌

(徐州师范学院生物系 221009)

摘要 本文对东方铃蟾与中华大蟾蜍的心肌、腓肠肌和小肠平滑肌肌球蛋白钙激活 ATP 酶活性进行了比较研究。实验结果表明东方铃蟾与中华大蟾蜍均显示出 Ca^{++} -ATP 酶活性的组织特异性。此外,东方铃蟾的心肌和腓肠肌中的 Ca^{++} -ATP 酶活性低于中华大蟾蜍中相应组织的酶活性;而东方铃蟾的小肠平滑肌中 Ca^{++} -ATP 酶活性却高于中华大蟾蜍小肠平滑肌中酶的活性。上述 Ca^{++} -ATP 酶活性的差异均具有一定的生理意义。

关键词 东方铃蟾 中华大蟾蜍 肌球蛋白 钙激活 ATP 酶

东方铃蟾 (*Bombina orientalis*) 作为 盘舌蟾科的代表动物,分布在西伯利亚、朝鲜及我国东北三省至江苏省连云港的东部地区。对其研究至今基本上限于形态方面的观察^[1-2]。我们认为,对东方铃蟾以及与其它种属动物关系的生理生化研究将有助于从本质上了解其生态形态方面的问题,并对研究两栖类及铃蟾属各种之间的演化及其相互关系有重要意义。随着对 ATP 酶的广泛研究^[3-4],发现肌球蛋白 ATP 酶活性决定肌肉收缩速度,肌球蛋白催化 ATP 水解所释放的自由能与肌肉收缩的负荷有关,肌球蛋白的 ATP 酶活性已被人们看做是肌肉收缩能力的生化指标之一。为此,我们以肌球蛋白钙激活 ATP 酶活性作指标,对东方铃蟾与中华大蟾蜍 (*Bufo gargarizans*) 进行了比较研究。

1 材料与方方法

于 1991 年 6 月在江苏省连云港市云占山和徐州市郊采集了东方铃蟾与中华大蟾蜍。标本均来自自然活动期的动物。

动物采回后,立即取出心脏、腓肠肌及小肠。按朱平等人的方法^[5]制备肌球蛋白溶液并测定肌球蛋白钙激活 ATP 酶的活性。

取 0.1mol/L $CaCl_2$ 0.1ml, 0.05mol/L 磷酸盐缓冲液 (0.5mol/L KCl, pH7.5) 0.4ml, 50 mmol/L ATP 0.1ml, 肌球蛋白溶液 0.4ml, 反应液总体积为 1.0ml。混匀后于 30℃ 保温 10 分钟,加 20% 三氯醋酸 1.0ml 终止反应。于 4000rpm 离心 5 分钟。取上清液按 Pollard 法^[6]测定无机磷的含量;按 Lowry 法^[7]测定肌球蛋白溶液中的蛋白质含量。

钙激活 ATP 酶比活性以单位时间内单位重量蛋白质所催化 ATP 释放无机磷的微粒分子数表示,即为 $\mu\text{mole Pi}/\text{mg Prot. min.}$

2 结果

2.1 心肌肌球蛋白钙激活 ATP 酶活性

东方铃蟾与中华大蟾蜍心肌肌球蛋白钙激活 ATP

表 1 东方铃蟾与中华大蟾蜍心肌肌球蛋白钙激活 ATP 酶活性

组别	实验动物数	$\bar{X} \pm SE$	t 检验
东方铃蟾	10	0.76 ± 0.38	t = 1.9965
中华大蟾蜍	10	1.10 ± 0.33	P > 0.05

比活单位: $\mu\text{mole Pi}/\text{mg Prot. min}$

* 徐州医学科学研究所生化室

酶活性(见表 1)。

由表 1 可见, 东方铃蟾心肌肌球蛋白钙激活 ATP 酶活性在表观上低于中华大蟾蜍心肌肌球蛋白钙激活 ATP 酶活性, 但统计的结果无显著差异 ($P > 0.05$), 两者基本上处于同一水平。

2.2 腓肠肌肌球蛋白钙激活 ATP 酶活性 东方铃蟾与中华大蟾蜍腓肠肌中肌球蛋白钙激活 ATP 酶的活性(见表 2)。

表 2 东方铃蟾与中华大蟾蜍腓肠肌肌球蛋白钙激活 ATP 酶活性

组 别	实验动物数	$\bar{X} \pm SE$	t 检验
东方铃蟾	10	0.28 ± 0.09	$t = 3.4643$
中华大蟾蜍	10	0.43 ± 0.10	$P < 0.01$

由表 2 可见, 东方铃蟾腓肠肌中肌球蛋白钙激活 ATP 酶活性明显低于中华大蟾蜍腓肠肌中肌球蛋白钙激活 ATP 酶的活性 ($P < 0.01$)。

2.3 小肠平滑肌肌球蛋白钙激活 ATP 酶活性

东方铃蟾与中华大蟾蜍小肠平滑肌中肌球蛋白钙激活 ATP 酶的活性(见表 3)。

表 3 东方铃蟾与中华大蟾蜍小肠平滑肌肌球蛋白钙激活 ATP 酶活性

组 别	实验动物数	$\bar{X} \pm SE$	t 检验
东方铃蟾	10	1.72 ± 0.83	$t = 3.3461$
中华大蟾蜍	10	0.69 ± 0.40	$P < 0.01$

实验结果表明东方铃蟾小肠平滑肌肌球蛋白钙激活 ATP 酶活性显著高于中华大蟾蜍小肠平滑肌肌球蛋白钙激活 ATP 酶活性 ($P < 0.01$)。

2.4 肌球蛋白钙激活 ATP 酶活性的组织特异性 一系列实验结果表明东方铃蟾与中华大蟾蜍均表现出肌球蛋白钙激活 ATP 酶活性的组织特异性及种属间特异性。

东方铃蟾三种肌组织中以小肠平滑肌的肌球蛋白 Ca^{++} -ATP 酶活性最高, 达 $1.72 \pm 0.83 \mu\text{mole Pi/mg Prot. min}$, 心肌次之, 为小肠平

滑肌酶活性的 44.19% ($P < 0.01$), 腓肠肌的 Ca^{++} -ATP 酶活性最低, 为小肠平滑肌酶活性的 16.28% ($P < 0.01$)。

中华大蟾蜍三种肌组织的肌球蛋白 Ca^{++} -ATP 酶活性以心肌中最高, 达 $1.10 \pm 0.33 \mu\text{mole Pi/mg Prot. min}$, 小肠平滑肌次之, 是心肌酶活性的 62.73% ($P < 0.05$), 腓肠肌中的 Ca^{++} -ATP 酶活性最低, 为心肌中酶活性的 39.09% ($P < 0.01$)。

此外, 东方铃蟾与中华大蟾蜍相比较均表现为心肌中的 Ca^{++} -ATP 酶活性高于腓肠肌。东方铃蟾心肌及腓肠肌中肌球蛋白 Ca^{++} -ATP 酶活性均低于中华大蟾蜍相应组织的酶活性, 但东方铃蟾小肠中平滑肌的肌球蛋白 Ca^{++} -ATP 酶活性却高于中华大蟾蜍小肠中的酶活性。

3 讨 论

自从肌球蛋白 ATP 酶被发现以来, 已对其活性与不同生理状态之间的关系进行了广泛的探讨^[3,4,11], 并发现在动物的不同活动状态, 不同内分泌条件下, 动物不同组织的 ATP 酶活性均发生相应的变化, 并与特定的生理机能相联系, 肌球蛋白的 ATP 酶活性现在已被看做是衡量肌肉收缩能力的生化指标。我们的实验结果亦表明: 东方铃蟾与中华大蟾蜍肌球蛋白钙激活 ATP 酶活性有其组织的特异性及种属间的差异。

东方铃蟾与中华大蟾蜍心肌中肌球蛋白钙激活 ATP 酶活性均处于较高水平, 对保证心脏在整个生命活动过程中一直不停地完成其泵血机能是有重要生理意义的^[3]。

东方铃蟾与中华大蟾蜍腓肠肌中肌球蛋白 Ca^{++} -ATP 酶活性均处于较低的水平, 东方铃蟾腓肠肌中酶活性比中华大蟾蜍腓肠肌中酶活性更低。这提示东方铃蟾与中华大蟾蜍骨骼肌的收缩能力较弱^[4-7], 可能是东方铃蟾与中华大蟾蜍活动缓慢的生理原因之一。这一推测与邹寿昌^[2]对东方铃蟾等动物生态行为的观察结果相符。本文作者在野外动物行为的观察中发现

东方铃蟾与中华大蟾蜍相比活动不敏捷，亦不善跳，极易被捕捉。

东方铃蟾小肠平滑肌中肌球蛋白 Ca^{++} -ATP 酶活性在三种组织中处于最高水平并且比中华大蟾蜍小肠中的酶活性要高得多。由于东方铃蟾有食水草的习性^[2]，而纤维素有强的刺激胃肠道运动的作用，因此，东方铃蟾小肠中高浓度的 Ca^{++} -ATP 酶活性是否与其食性有关或是对生存环境的一种适应有待进一步研究。

参 考 文 献

1 刘承钊,胡淑琴。科学出版社,1961。36。

- 2 邹寿昌,冯照军,李宗芸。动物学杂志,1991,26(1): 21—24。
- 3 朱平,杨同书。白求恩医科大学学报,1984,10(4): 375—379。
- 4 Pollard T. D. *Methods of Enzymol* 1982, 83:123—130。
- 5 Barany M. *J. Gen. Physiol.*, 1967, 50: 197—218。
- 6 周衍椒,张镜如。人民卫生出版社,1985。
- 7 Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farrar A. et. al. *J. Biol. Chem.* 1951, 193: 265—275。
- 8 Schener J., A. K. Bhan. *Circ. Res.* 1979, 45(1):1—12。