

· 研究简报 ·

## 紫贻贝 4 种同工酶的组织特异性表达研究

刘慧慧, 常抗美

(浙江海洋学院海洋科学学院, 浙江 舟山 316004)

**摘要:** 采用聚丙烯酰胺垂直电泳法对紫贻贝 *Mytilus edulis* 的鳃、消化腺、外套膜、足、闭壳肌等 5 种组织的超氧化物歧化酶 (SOD)、三磷酸腺苷酶 (ATPase)、苹果酸脱氢酶 (MDH)、苹果酸酶 (ME) 进行了检测分析。结果表明, SOD 在紫贻贝的 5 种组织中均有表达, 共有 4 条酶带, 但迁移率最大的酶带在足和外套膜中未出现, 而在另外 3 种组织中呈弱表达; ATPase 在除消化腺外的组织中都表现为 2 条带; MDH 在 5 种组织中都表达出 1 条酶带, 其中足和闭壳肌的 MDH 染色最深; ME 存在 1~2 条酶带, 其中迁移率大的条带在 5 种组织中都有表达, 而迁移率小的条带只存在于外套膜、闭壳肌和足中。从检测结果来看, 上述 4 种酶在紫贻贝体内的表达有一定的组织特异性。

**关键词:** 紫贻贝; 同工酶; 组织特异性

**中图分类号:** Q55; Q959.215

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1673-2227-(2008)04-0060-04

## Study on tissue-specificity expression of 4 isozymes in *Mytilus edulis*

LIU Huihui, CHANG Kangmei

(Marine Science College, Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316004, China)

**Abstract:** SOD, ATPase, MDH and ME isoenzymes in gill, digestive gland, foot, adductor muscle and mantle of *Mytilus edulis* were tested and analyzed using polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE). The results indicated that four SOD bands were identified in five tissues, and the band with the biggest mobility ratio were found weakly in gill, digestive gland and adductor muscle but not in foot and mantle. Two ATPase bands were found in four tissues except digestive gland. One MDH band was found in five tissues, but the MDH gene expressed strongly in foot and adductor muscle. Two ME bands were examined in foot, adductor muscle and mantle, but the band with smaller mobility ratio was found in gill and digestive gland. Four isozymes showed diverse bands in different tissues, displaying tissue-specificity.

**Key words:** *Mytilus edulis*; isozyme; tissue-specificity

紫贻贝 (*Mytilus edulis* Linnaeus) 别名淡菜、海红, 为寒温带种, 中国黄渤海盛产, 因其繁殖力强、生长快, 已被列为主要养殖贝类之一。现今贻贝养殖逐年扩大规模, 但由于各种养殖技术的欠缺, 导致种质资源和遗传性状的单一化, 不利于渔业生产和可持续发展。

目前, 对紫贻贝等贻贝科种类的研究主要集中在组织

学<sup>[1-2]</sup>、营养学<sup>[3-4]</sup>、养殖技术<sup>[5]</sup>及苗种培育<sup>[6-7]</sup>等方面, 在生化遗传方面的研究较少, 因此, 此研究用聚丙烯酰胺凝胶电泳法对紫贻贝 5 种组织中的 4 种同工酶的表达进行了初步分析, 以期为贝类学研究积累资料, 同时为进一步研究贻贝的遗传特异性、种质鉴别、生物进化等问题提供一定的理论参考。

收稿日期: 2008-01-15; 修回日期: 2008-03-31

资助项目: 浙江省自然科学基金项目 (Y307381); 浙江省重大科技攻关项目 (2004C13006); 浙江海洋学院校内项目 (X06LY05)

作者简介: 刘慧慧 (1977-), 女, 硕士, 讲师, 从事海洋生物学研究。E-mail: liuhuihui\_77@163.com

# 1 材料和方法

## 1.1 材料

紫贻贝样品于2007年3月取自浙江省舟山市嵊泗县贻贝养殖区，均为成熟个体，活体带回实验室，取贻贝外套膜、闭壳肌、足、鳃、消化腺5种不同组织，-70℃低温保存。

## 1.2 方法

1.2.1 样品制备 将准确称取的上述5种组织，蒸馏水漂洗后，按1:3的比例（体重与体积之比）加入双蒸水，冰浴下匀浆，4℃冷冻离心机中12 000 r·min<sup>-1</sup>离心30 min，取上清，加入适量溴酚兰后分装，样品放入-70℃低温冰箱保存备用。

1.2.2 电泳 采用不连续垂直聚丙烯酰胺凝胶电泳法。分离胶浓度为8.2%（pH 8.9），浓缩胶浓度3.6%（pH 6.7），电泳在4℃冰箱中进行。恒压200 V，电泳时间为5~6 h，同工酶的显色方法见参考文献[8]，此文略作改动。染色完毕后用75%冰醋酸溶液固定，生物电泳图像系统进行摄影记录。电泳酶谱分析见参考文献[9]。

# 2 结果

## 2.1 超氧化物歧化酶（SOD, E. C. 1.15.1.1）

实验结果显示，SOD在紫贻贝5种组织中均表达，多

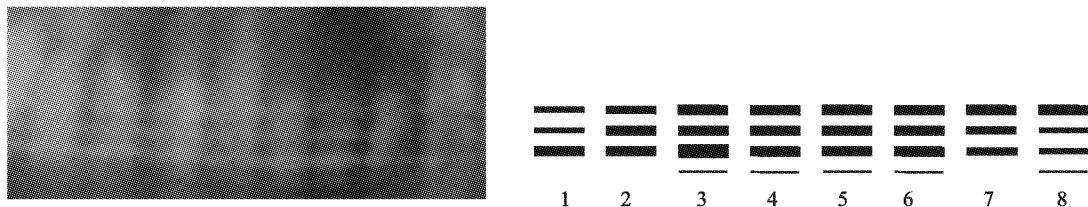


图1 紫贻贝5种组织SOD同工酶电泳图谱

1、2. 足；3. 鳃；4、5、6. 闭壳肌；7. 外套膜；8. 消化腺

Fig. 1 The PAGE pattern of SOD isozyme in five tissues of *M. edulis*

1, 2. foot; 3. gill; 4, 5, 6. adductor muscle; 7. mantle; 8. digestive gland

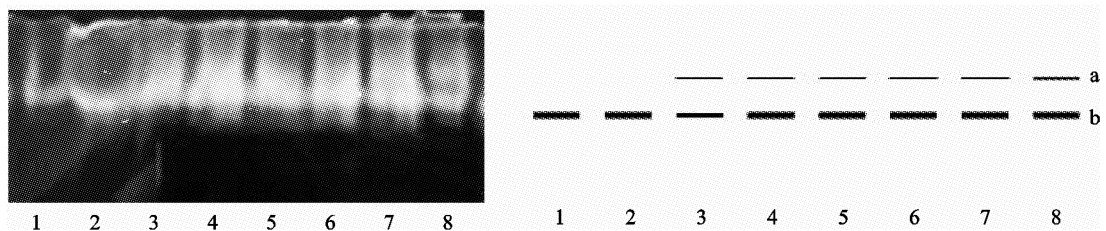


图2 紫贻贝5种组织ATPase同工酶电泳图谱

1、2. 消化腺；3. 闭壳肌；4、5. 外套膜；6、7. 足；8. 鳃

Fig. 2 The PAGE pattern of ATPase isozyme in five tissues of *M. edulis*

1, 2. digestive gland; 3. adductor muscle; 4, 5. mantle; 6, 7. foot; 8. gill

表现为4条酶带，但迁移率最大的酶带在足和外套膜中未出现，而在另外3种组织中呈弱表达；其它酶带在闭壳肌中表达相对较强（图1）。

## 2.2 三磷酸腺苷酶（ATPase, E. C. 3.6.1.8）

紫贻贝5种组织的ATPase酶活性组织特异性不明显，除消化腺外，都表达了2条带a和b，ATPase在5种组织条带表达有差异（图2）。

## 2.3 苹果酸脱氢酶（MDH）

紫贻贝5种组织MDH的电泳酶谱差异不是很明显，都只有1条酶带，但每种组织电泳酶带的强度却不同，其中足的酶带强度最高，其次是闭壳肌，消化腺、外套膜和鳃的酶带强度最弱（图3）。

## 2.4 苹果酸酶（ME）

ME的电泳酶谱在紫贻贝的5种组织差异较为明显，虽然每种组织的迁移速率基本相同，但是酶带的数量和强度都存在很大差异。外套膜、足和闭壳肌均表现出2条酶带，而消化腺和鳃则都只有1条酶带。从酶带表达强度来看，外套膜的近负极端的酶带表达最强，闭壳肌的2条酶带与足的2条酶带依次较弱，消化腺和鳃的酶带最弱（图4）。

# 3 讨论

同工酶是基因表达的产物，不同的同工酶与基因表达的关系不同。同工酶的组织特异性与组织生理功能相关，

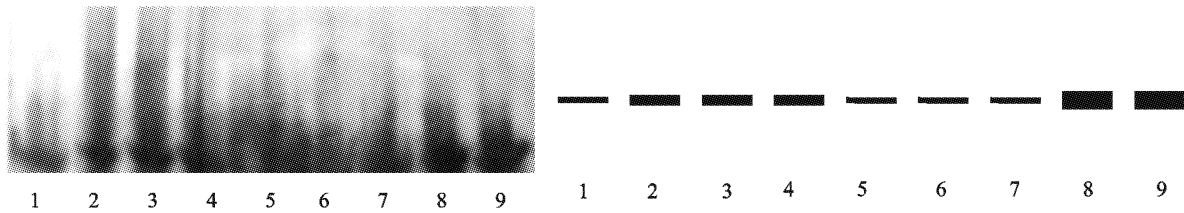


图3 紫贻贝5种组织MDH同工酶电泳酶谱

1、7. 鳃; 2、3、4. 闭壳肌; 5. 消化腺; 6. 外套膜; 8、9. 足

Fig.3 The PAGE pattern of MDH isozyme in five tissues of *M. edulis*

1, 7. gill; 2, 3, 4. adductor muscle; 5. digestive gland; 6. mantle; 8, 9. foot

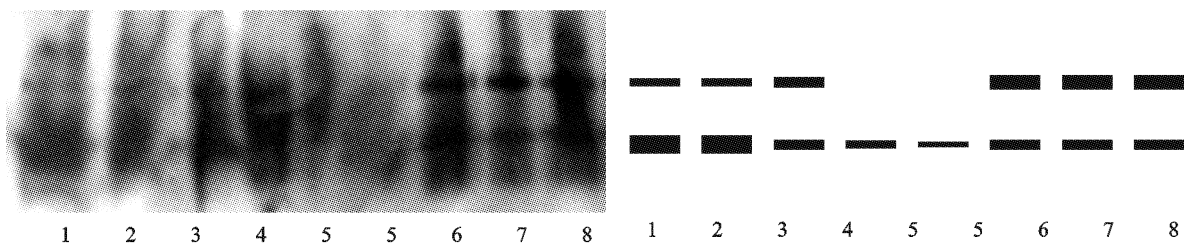


图4 紫贻贝5种组织ME同工酶电泳酶谱

1、2. 外套膜; 3. 足; 4. 消化腺; 5. 鳃; 6、7、8. 闭壳肌

Fig.4 The PAGE pattern of ME isozyme in five tissues of *M. edulis*

1, 2. mantle; 3. foot; 4. digestive gland; 5. gill; 6, 7, 8. adductor muscle

同一种酶在同一生物体内的不同组织之间由于生理功能的不同而存在差异,即组织特异性。目前,同工酶电泳技术已广泛应用于海洋贝类的组织表达研究、种质鉴定和种群遗传结构分析等领域。其中,贝类的同工酶组织特异性研究涉及马氏珠母贝 (*Pinctada martensii*)<sup>[10]</sup>、泥蚶 (*Tegillarca granosa*)<sup>[9]</sup>、菲律宾蛤仔 (*Ruditapes philippinarum*)<sup>[11]</sup>、企鹅珍珠贝 (*Pteria penguin*)<sup>[12]</sup>等,并对编码同工酶基因的座位数、多态性进行了探讨,为贝类学研究提供了大量生化遗传指标,但有关紫贻贝同工酶的研究报道还较少。

通过对紫贻贝的足、外套膜、闭壳肌、鳃和消化腺等组织的SOD、ATPase、MDH、ME进行分析发现,SOD在紫贻贝的5种组织中均有表达,多表现为4条酶带,但迁移率最大的酶带在足和外套膜中未出现,而在另外3种组织中呈弱表达。这样的分布特征与其5种组织的生理功能密切相关,SOD是生物体防御氧化损伤的重要酶类,当生物体受到外界病原体侵染后,体内自由基浓度将升高,而SOD能清除体内过多的自由基以免除其对自身细胞的毒害<sup>[13]</sup>;另外,贻贝依靠闭壳肌实现其贝壳的开闭,是其生命过程中主要的运动器官,因此它的SOD含量较丰富,李

广丽等<sup>[14]</sup>、李太武等<sup>[9]</sup>有过类似的报道。ATPase存在于生物体内所有的细胞中,在细胞的供能活动如离子平衡中起重要作用,是催化ATP合成的一种酶。在紫贻贝中,ATPase在除消化腺外的组织中都表达了2条带。MDH以NAD<sup>+</sup>作为电子受体,广义上也包括以NAD<sup>+</sup>或NADP<sup>+</sup>作为受体而生成丙酮酸和碳酸的ME。广泛存在于线粒体、细菌细胞膜上,是三羧酸循环中重要的脱氢酶之一,也是三羧酸循环中脱氢氧化的最后一步。MDH在紫贻贝5种组织中都表达出1条酶带,其中足和闭壳肌的MDH染色最深,该结果与李太武等<sup>[9]</sup>对泥蚶同工酶不同组织的研究、菲律宾蛤仔<sup>[12]</sup>的MDH同工酶谱等相似,该特征与肌肉收缩所需要的大量能量在柠檬酸循环过程中,把苹果酸转为草酰乙酸,糖原能通过酵解和有氧分解迅速释放大量能量有关。但上述结果与中国栉孔扇贝 (Chinese Japanese *Chlamys farreri*) 和日本栉孔扇贝 (Japanese *Chlamys farreri*) 不同<sup>[15]</sup>,所以,不同贝类的MDH同工酶的表达差异有待进一步研究。ME是参与能量代谢的重要酶类,可以补充三羧酸循环因其它代谢而消耗的草酰乙酸和苹果酸;同时它催化的反应本身也是糖酵解的辅助途径,因而该酶的含量和活性将影响能量代谢的顺利进行。检测中ME存在1~2条酶带,

其中迁移率大的条带在5种组织中都有表达,而迁移率小的条带只存在于外套膜、闭壳肌和足中;在活性上,紫贻贝5种组织的ME也存在较明显的差别,但不管是数量上还是活性上外套膜和闭壳肌中ME的表达都占优势,其次是足组织,该酶分布特征与机体参与能量代谢的生理机能紧密联系。

同工酶一般由多个基因位点控制,表达差异反映了其不同组织中受不同的遗传基因控制的结果,同时也是在不同组织中各位点以不同的表达方式适应5种组织器官的不同生理生化需要。生活在不同地区的贻贝,为了适应各自的环境条件,必然会产生有不同组织特异性的同工酶系;酶活性强度还可能会因生物体健康状况、生理功能失调而产生一定的变化,因此,也可以通过检测生物体一定组织中同工酶的表达状况的方法来诊断疾病,该方法可以用来监测鱼、虾、贝等养殖过程中的病害发生状况,从而避免水产养殖动物发生大规模的死亡。所以有理由相信,随着同工酶技术的继续发展,该技术一定会成为贝类养殖甚至是整个水产养殖业中不可或缺的专业技术。

#### 参考文献:

- [1] 崔龙波,刘传林,陆瑶华,等.紫贻贝(*Mytilus edulis* L.)鳃的研究[J].齐鲁渔业,1996,13(5):11-14.
- [2] 崔龙波,马圣媛,刘萍,等.紫贻贝消化系统的组织学和组织化学研究[J].上海水产大学学报,1999,8(4):316-321.
- [3] 苏秀榕,张健,李太武,等.两种贻贝营养成分的研究[J].辽宁师范大学学报:自然科学版,1997,20(3):239-243.
- [4] 苏秀榕,李太武,丁明进.紫贻贝和厚壳贻贝营养成分的研究[J].中国海洋药物,1998(2):30-32.
- [5] 孙显武,王洪瑞,赵永益,等.贻贝套网兼养刺参技术[J].科学养鱼,2001(1):28.
- [6] 李世栋,舒云华,方圃,等.贻贝自然海区半人工采苗的技术[J].水产养殖,1995(4):6-7.
- [7] 刘德经,王聪明,施孙福,等.紫贻贝(*Mytilus galloprovincialis* Lamarck)筏式采苗和渡夏的研究[J].福建水产,1997(1):46-52.
- [8] 李太武,王冬群,苏秀榕.缢蛏(*Sinonovacula constricta*)生物遗传特征分析[J].海洋与湖沼,2003,34(6):640-647.
- [9] 李太武,吕振明,林志华,等.泥蚶同工酶谱在不同组织的差异研究[J].海洋学报,2004,26(4):152-162.
- [10] 李广丽,叶富良.马氏珠母贝不同组织同工酶的比较[J].水产学报,2000,24(5):417-421.
- [11] 梁玉波,络喜昌.中国北方菲律宾蛤仔同工酶电泳的初步分析比较[J].海洋环境科学,1999,18(1):24-28.
- [12] 王梅芳,师尚丽,刘永,等.企鹅珍珠贝同工酶表达多态性的初步研究[J].湛江海洋大学学报,2004,24(1):9-14.
- [13] 姜建国,熊全沫,姚汝华.鳙鱼不同组织的同工酶研究[J].华南理工大学学报:自然科学版,1998,26(3):68-72.
- [14] 李广丽,杜晓东,叶富良.合浦珠母贝同工酶的电泳分析[J].中国水产科学,2001,8(2):17-22.
- [15] 王志铮,李太武,刘艳,等.栉孔扇贝六种同工酶的生化遗传分析[J].海洋与湖沼,2002,33(3):232-238.