

白暨豚血红蛋白电泳的相对迁移率*

官之梅

(中国科学院水生生物研究所)

白暨豚血红蛋白的电泳图谱有清晰的两条带。它们的相对迁移率(mr)分别是 0.415 和 0.485; 相对迁移率的百分比($mr\%$)分别是 84.70% 和 99.07%(人类 Hb A $mr\% = 100\%$)。较慢带含量的百分比是 68.42%, 较快带的为 31.58%。按照蒙蒂(De Monte)和皮莱里(Pilleri)的命名法, 白暨豚的血红蛋白类型应在 V 和 VI 之间。在血红蛋白溶液中未发现非血红素蛋白带 NHP (non-hem protein)。

1979 年蒙蒂和皮莱里对自 1968 年以来许多学者所作的鲸类血红蛋白相对迁移率的研究结果进行了概括和分类。尽管由于标本难以得到, 这一研究不论在动物的种类还是数量上都是很有限的, 但是仍为今后鲸类血红蛋白研究工作的标准化奠定了良好的基础。

* 血红蛋白相对迁移率的研究, 除了能为分类和系统发生等方面的分析提供参考之外, 血红蛋白电泳图谱的变异, 作为研究和分离异常血红蛋白的有效方法, 也是临床诊断的重要手段。

淡水豚科(Platanistidae)血红蛋白相对迁移率的研究工作, 已经进行的有贝河豚(*Inia boliviensis*)、亚河豚(*Inia geoffrensis*)、拉河豚(*Ponloporia blainvillei*)和恒河豚(*Platanista indi*)。现在我们对仅产于我国的白暨豚 *Lipotes vexillifer* 的血红蛋白的相对迁移率作了初步测定, 从而可以对整个淡水豚类的血红蛋白的迁移率进行比较。

材料和方法

样品取自人工条件下生活近四年的白暨豚“淇淇”。“淇淇”是 1980 年 1 月 12 日从湖南省岳阳城陵矶获得的一头雄性的白暨豚。取样时体重达 85.3 公斤, 体长 1.89 米。性已成熟。

血液从尾动脉抽取, 用 1% 的肝素钠抗凝。

血红蛋白溶液的制备 (Katsuhiko Yoshiyasu et al.) 全血在 5°C 环境中以 2000 转/分离心, 吸去血清。血球用冷的(5°C)生理盐水(0.85% 氯化钠)洗 3 次。将洗好的红血球加其体积一半的蒸馏水充分摇匀, 再离心 5 分钟, 取其上清液即为血红蛋白溶液。然后将此血红蛋白溶液加入 4 倍的 Aculute 溶液摇匀, 使其变为稳定的氰化血红蛋白。再加入几滴四氯化碳剧烈摇动后离心, 取其上清液放在冰盒中备用。

Aculute 溶液的配方

| | |
|-------|---------|
| 碳酸氢钠 | 250 毫克 |
| 氰化钾 | 10.2 毫克 |
| 高铁氰化钾 | 50.0 毫克 |
| 淀粉 | 39.8 毫克 |
| 蒸馏水 | 40.0 毫升 |

血红蛋白电泳使用 DYY-III 电泳仪。以醋酸纤维薄膜(浙江省黄岩曙光化工厂出品)作为支持物。薄膜尺寸为 8 × 2 厘米。巴比妥缓

* 此工作所用血样由陈道权同志提供。扫描由朱兰非同志所作, 在此一并致谢。

冲液, pH 8.6, 离子强度 0.06。电压为 140—150 伏, 电流 0.4—0.5 毫安/厘米, 通电时间为 2 小时。通电毕立即将膜取下, 分别浸于 0.5% 的氨基黑 10 B 染液和苯胍溶液, 范罗斯等 (Van Ros et al.) 以鉴别血红蛋白带和血红蛋白溶液中的非血红素蛋白带 NHP。

血红蛋白相对迁移率的计算用 Van Ros 和范桑德 (Van Sande) 所介绍的方法。电泳图象和各带含量的百分比用英国产皇冠 200 型自动扫描仪得出。

血红蛋白类型的划分: 依照 1979 年蒙蒂和皮莱里的分类方法, 按主要电泳带的电泳位置和带的数量分成 6 种类型, 以罗马字表示:

类型 I: 一个带, 和人类 Hb S 的迁移率相似, 平均相对迁移率 $m_r = 0.39$ 。

类型 II: 一个带, 和人类 Hb F 的迁移率相似, 平均相对迁移率 $m_r = 0.45$ 。

类型 III: 一个带, 和人类 Hb A 的迁移率相似, 平均相对迁移率 $m_r = 0.54$ 。

类型 IV: 二个带, 分别低于人类 Hb S 的迁移率 (平均相对迁移率 $m_r = 0.30$) 和等于人类 Hb S 的迁移率 (平均相对迁移率 $m_r = 0.39$)。

类型 V: 二个带, 分别和人类的 Hb S 和 Hb F 的迁移率相似。

类型 VI: 二个带, 分别类似于人类 Hb F 的迁移率和高于人类 Hb A 的迁移率。

这 6 个主要血红蛋白类型可能伴有密度较小的血红蛋白带或电泳迁移率低的 NHP 带。

结果与讨论

白暨豚血红蛋白的电泳图谱有清晰的两个带 (见图 1)。第一个带 (向阳极泳动较慢的带) 密度较大; 第二个带 (向阳极泳动较快的带) 密度较小。相对迁移率 m_r 分别为 0.415 和 0.485。相对迁移率的百分比 $m_r\%$ 分别为 84.70% 和 99.07%。两个带成分含量的百分比分别为总量的 68.42% 和 31.58%。按照 6 种类型的划分方法, 介于类型 V 和类型 VI 之间, 笔者认为定作类型 V—VI 较为确切。

白暨豚血红蛋白溶液中没有非血红素蛋白

带 NHP。

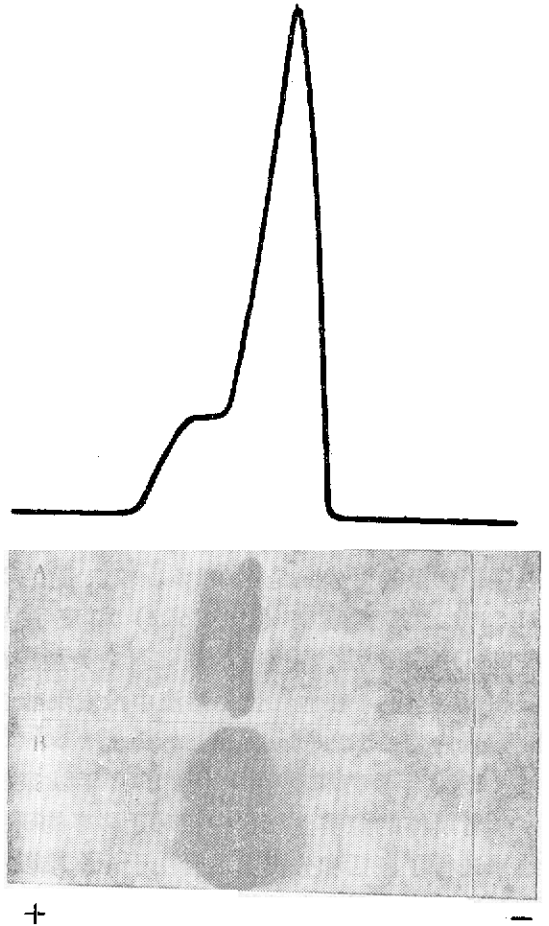


图 1 醋酸纤维薄膜上的电泳迁移率和光密度
A——白暨豚 Hb; B——人类 Hb A

现将蒙蒂和贝鲁达 (Baluda) 所作 4 种淡水豚的资料和白暨豚的结果列入表 1。

对淡水豚科各种类的资料进行比较可以看出:

1. 白暨豚和拉河豚一样, 它们血红蛋白的电泳图都是 2 个带。白暨豚 2 条血红蛋白带的相对迁移率都高于 V 型的平均值 (0.39 和 0.45), 又低于拉河豚的 VI 型, 是淡水豚科中最接近拉河豚的种类。

2. 白暨豚和拉河豚 2 条血红蛋白带的百分比含量都是第一条带高于第二条带, 而且含量

表 1 淡水豚科血红蛋白带的相对迁移率 m_r , 相对迁移率的百分比 $m_r\%$ 、含量百分比和 NHP 带的数量

| 种 类 | Hb 类型 | 相对迁移率 m_r | | 相对迁移率的百分比 $m_r\%$ | | 含量百分比 | | NHP | 标本数 n |
|---------|---------|-------------|-------|-------------------|--------|-------|-------|-----|---------|
| | | 1 | 2 | 1 | 2 | | | | |
| 亚河豚 | III | 0.548 | | 111.80 | | 100 | | | 2 |
| 贝河豚 | II | 0.450 | | 91.83 | | 100 | | 3 | 4 |
| 恒河豚* | II-III* | 0.464 | | 94.69 | | 100 | | 1 | 1 |
| 拉河豚 | VI | 0.461 | 0.537 | 93.87 | 109.79 | 67.2 | 32.8 | 0 | 7 |
| 白暨豚 | V-VI | 0.415 | 0.485 | 84.70 | 99.07 | 68.42 | 31.58 | 0 | 1 |
| 人类 Hb A | | 0.49 | | 100% | | | | | |

* 原作者将其的 Hb 类型放在类型 II。为更准确了解其电泳位置,本人认为定作 II-III 类型更妥。

的百分比十分相近: 第一条带分别为 68.42% 和 67.2%, 第二条带分别为 31.58% 和 32.8%。

3. 白暨豚和拉河豚的血红蛋白溶液中都没有非血红素蛋白带 NHP, 而亚河豚和恒河豚都具有 NHP 带。

由以上分析可见, 白暨豚血红蛋白的电泳图谱不同于地理上接近、又都生活在淡水的恒河豚, 而和生活于南美的咸淡水豚类拉河豚相似。

蒙蒂等认为血红蛋白的同质性并伴有 NHP 带似乎是仅仅生活于淡水的豚类的特点, 而生活在咸淡水的拉河豚则没有 NHP 带。从试验的结果看来并非如此, 仅产于我国、生活在淡水的白暨豚的血红蛋白溶液中也 没有 NHP 带。

由于只是一头标本的结果, 其它几种淡水豚的结果也是从 1—7 头标本所获得, 因此还不可能对淡水豚科各种类血红蛋白的同质性及其多型性作出判断。至于在分类学和系统发生上的价值要待作出上述判断后方能得出结论。为使这一研究更加完善, 今后有机会得到更多的标本, 我们将继续这方面的工作。

参 考 文 献

[1] 上海市医学化验所 1979 临床生化检验 (上册)

141—150 上海科技出版社。
 [2] Baluda, H. C., D. D. Kulu and R. S. Sparkes 1972 Cetacean hemoglobins: electrophoretic finding in nine species. *Comp. Biochem. Physiol.* 41(B): 647—653.
 [3] De Monte T. and G. Pilleri 1979 Cetacean hematology I. Hemoglobin. *Investigations on cetacea*, edited by G. Pilleri 10: 227—288.
 [4] De Monte T. and G. Pilleri 1971 Relative mobility of the hemoglobin in the family Platanistidae. *Investigations on cetacea*, edited by G. Pilleri, 3: 46—50.
 [5] Horvath, S. M., H. Chiodi and S. H. Ridgway 1968 Respiratory and electrophoretic characteristics of hemoglobin of Porpoise and Sea Lions. *Comp. Biochem. Physiol.* 24: 1027—1033.
 [6] Katsuhiko Yoshiyasu and Yosiyasu Humoto 1972 Starch gel electrophoresis of hemoglobins of freshwater salmonid fishes in Southwest Japan-I Genus *Salvelinus* (Char.). *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 38(7): 779—788.
 [7] Sharp, G. D. 1975 A Study of electrophoretic and O_2 dissociation properties of the hemoglobin of some delphinid cetaceans. *Comp. Biochem. Physiol.* 51(A): 637—681.
 [8] Van Ros G. et M. Van Sande 1965 La comparaison des hémoglobines animales par électrophorèse de zone en milieux gelifiés et son intérêt en systématique zoologique. *Bull. Soc. Roy. Zool. Anvers* 35: 19—64.