

川、鄂两地钉螺足肌蛋白质二维电泳图谱的比较研究

朱昌亮 叶炳辉 赵慰先

(南京医学院)

朱晓龙 赵学忠 张云

(南京军区后勤部军事医学研究所)

陶亮风

(江苏省寄生虫病防治研究所)

摘要 本文比较分析了川、鄂两地钉螺足肌蛋白质多肽图谱。结果：(川)光亮钉螺和(鄂)肋壳钉螺分别显示多肽点 92 和 106 个，其大部份为 64KD 以下的酸性蛋白。除了共有多肽外，两者差异点分别为 12 和 21 个，其中主要为对方未查见的特有多肽；此外，在光亮钉螺 5 号和 9 号多肽点位置，肋壳钉螺分别出现 3 个和 2 个多肽点，以上为质的差异。光亮钉螺 3 号和肋壳钉螺 6 号多肽均较对方相应位置的多肽明显增大，存在量的差别。两地钉螺平均差异为 16.7%。

钉螺 (*Oncomelania hupensis*) 是日本血吸虫唯一的中间宿主。我国钉螺均属一种^{[1][2]}，其种下分类问题至今仍无统一看法。为搞清这一问题积累资料，本文采用聚丙烯酰胺凝胶卧式平板二维电泳法初步比较了四川大邑光亮钉螺(以下简称“光亮钉螺”)与湖北江陵肋壳钉螺(以下简称“肋壳钉螺”)的足肌蛋白质多肽点图谱，现将结果报告如下。

材料与 方法

(一) 钉螺足肌匀浆的制备：

两地钉螺均为现场采集、经实验室饲养数月的阴性成螺。以每 100 只钉螺(雌雄各半)足肌加 1 毫升蒸馏水的比例冰浴磨碎，15000 转/分离心沉淀 15 分钟后取上清液，以 751 分光光

度计测定并调整至每毫升样品液含蛋白质 12 毫克。

(二) 聚丙烯酰胺凝胶二维电泳：

参照叶炳辉等改进的二维电泳法^[4]。采用 LKB-2117 型多用电泳仪，LKB-1809-101 PH 3.5—10 安福林 (Ampholine)。一维等电点聚焦加样量 40 微升；二维 SDS-电泳使用以 LKB-2117-900 梯度凝胶器浇制的 5—15% 梯度凝胶。标准蛋白系西德进口的、分子量分别为 64000、48000、32000 与 16000 的交联血红蛋白。

(三) 染色：参照文献 [6]。

结 果

光亮钉螺显示多肽点 92 个，肋壳钉螺显示

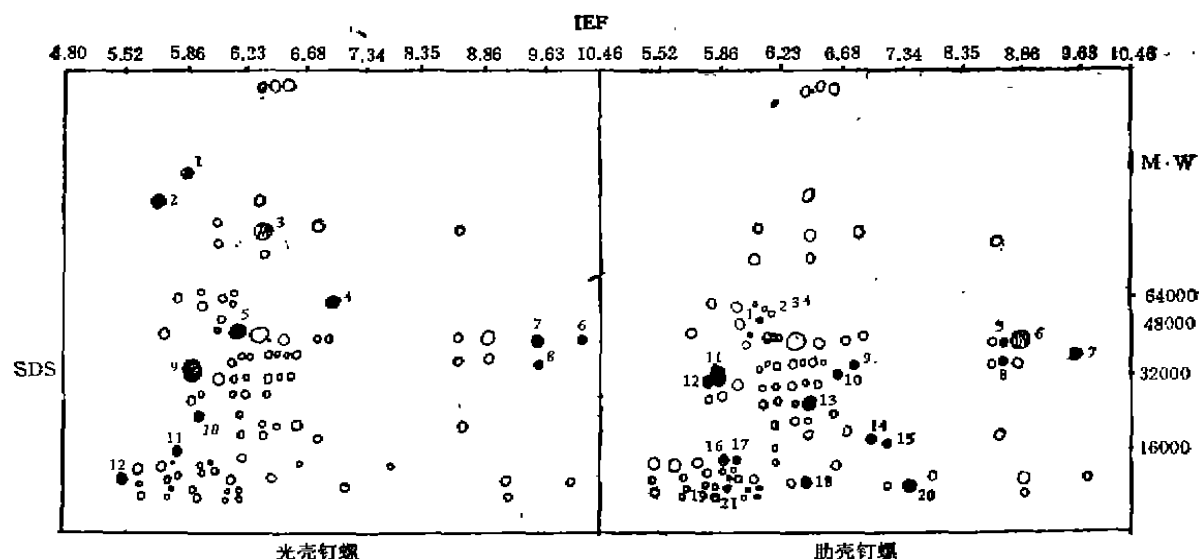


图1 两地钉螺足肌蛋白质多肽点模式图

多肽点106个。大部份多肽为两者共有,以64kDa以下的酸性蛋白为多。在显示的多肽点中,光壳钉螺差异点12个,占13.0%;肋壳钉螺差异点21个,占19.8%(见图1)。

从上图可见,光壳钉螺1、2、4、6、7、8、10、11、12号多肽在肋壳钉螺未查见;肋壳钉螺1、5、7、8、9、10、13、14、15、16、17、18、19、20、21号多肽在光壳钉螺未查见。在光壳钉螺主要的多肽点——5号(42.7/6.18)和9号(32.4/5.90)位置,肋壳钉螺分别出现3个(2号、3号和4号)和2个(11号和12号)多肽点。以上均为质的差异。

光壳钉螺3号多肽、肋壳钉螺6号多肽分别较对方相应位置的多肽明显增大,存在量的差异。

将以上各差异点列于表1。

讨 论

动物蛋白质组成是物种本质的重要属性,是稳定的遗传性状。戴维斯(Davis)等人(1967)以蛋白质盘状电泳分析用于贝类系统分类,结果表明,蛋白质电泳图谱在不同种间差别明显;在同种标本则基本一致^[9]。本试验中,两地钉螺足肌蛋白质多肽点图谱的基本图型相

表1 两地区钉螺足肌蛋白质变异多肽点的分子量与等电点

编号	光壳钉螺	肋壳钉螺
	分子量(kDa)/等电点(PI)	分子量(kDa)/等电点(PI)
1	208.9/5.86	50.1/6.10
2	151.4/5.72	42.7/6.13
3	112.2/6.33	42.7/6.18
4	61.7/6.95	42.7/6.22
5	42.7/6.18	40.7/8.73
6	41.7/10.28	40.7/8.86
7	40.7/9.50	37.2/9.60
8	34.7/9.54	34.7/8.75
9	32.4/5.90	33.9/6.92
10	24.0/5.94	31.6/6.71
11	18.2/5.80	30.9/5.87
12	15.5/5.55	30.2/5.80
13		25.1/6.45
14		26.0/7.14
15		19.5/7.27
16		17.8/5.90
17		17.8/5.96
18		15.1/6.46
19		15.1/5.79
20		15.1/7.62
21		14.8/5.91

注:表内各值误差±5%。

似。大部分多肽,尤其是蛋白量较大的主要多肽点,为两者共有。其均分布在64kDa以下的酸性范围内。该结果似可进一步佐证,两地钉

螺同属一种)^[2,3]。本文少数多肽存在微小差别。如在光亮钉螺主要的多肽点5号(42.7kDa/PI6.18)和9号(32.4kDa/PI5.90)的位置,肋壳钉螺分别出现3个(2号、3号和4号)和2个(11号和12号)小多肽点。两地钉螺在相同位置的一些多肽点存在量的差别,以及各自特有一部份多肽。两者平均差异为16.7%。泰特(Tait, 1981)比较了两地株恶性疟原虫的蛋白质多肽点,差异为20%^[7]。结合两地钉螺在形态和生态方面的不同,似可认为钉螺种内有分化的可能,其有待收集各地标本做进一步比较研究。

采用二维电泳研究钉螺蛋白质,国内外尚未见其它报道。该法敏感性高、重复性好,经考马斯亮兰G250染色,多肽点图谱清晰可辨,是

钉螺种下分类研究的良好手段之一。

参 考 文 献

- [1] 毛守白等 1954 日本血吸虫中间宿主——钉螺——的分类问题 动物学报 6(1): 1—4。
- [2] 刘月英 1974 关于我国钉螺的分类问题 动物学报 20(3): 223—229。
- [3] 刘月英等 1981 钉螺的亚种分化 动物分类学报 6(3): 253—268。
- [4] 叶炳辉等 1987 一种改进的二维电泳法 南京医学院学报 7(3): 222。
- [5] Davis, G. M 1967 Disc electrophoretic analysis of molluscan individuals and population *Malacologia* 5: 311—334
- [6] Lustrament, LKB 2117. Multiphor Field of Application Protein Analysis Application Note 320 1981
- [7] Tait, A et al. 1981 Analysis of Proteins variation in *Plasmodium falciparum* by two-dimensional gel electrophoresis *Molecular and Biochemical Parasitology* 2: 205—218。