

软体动物的血红蛋白

HEMOGLOBIN OF MOLLUSCA

马英杰¹ 刘珊珊² 马爱军³ 张志峰¹

(¹ 青岛海洋大学海洋生命学院 266003)

(² 中国科学院海洋研究所 青岛 266071)

(³ 中国水产科学研究院黄海水产研究所 青岛 266071)

血红蛋白对于脊椎动物的氧气输送起着重要的作用,在哺乳动物、鱼、鸟等动物的血液中有高浓度的血红蛋白^[4]。其含量与存在与否同其生境中氧气的含量及其生理功能的关系不大。在软体动物中血红蛋白不是必需的,它们很可能是次生的,并且各种动物之间的血红蛋白和脊椎动物的血红蛋白皆互不影响。

1 细胞内血红蛋白及肌球蛋白

肌球蛋白在软体动物中分布较广,在多板纲、腹足纲、掘足纲中皆有。在海兔属(*Aplysia*)和蛾螺属(*Busycon*)中其颊部肌肉中的肌球蛋白含量是脊椎动物骨骼肌肉中肌蛋白含量的1倍^[1,5],其功能主要是协助动物将氧气从循环的血清蛋白中传送到呼吸组织中去^[3]。脊椎动物的肌球蛋白是单体,其分子量为15 000~17 000的单肽链,而软体动物的肌球蛋白既可是单体,又可是二聚体,其肽链的分子量为15 000~17 000。所以,关于脊椎动物肌球蛋白由原始的单体进化到复杂的二聚体和四聚体的理论也适用于软体动物的肌球蛋白的进化。

单体的肌球蛋白代表原始的类型,出现在低等软体动物中,如仿乳玉螺(*Polynices duplicatus*)等。二聚体肌球蛋白的出现则是由于单体的基因加倍了,它们出现在较高等的软体动物中^[6,11]。在有肺类和后鳃类

中的肌球蛋白为单体,而在多板纲的石鳖类的齿舌肌肉中,单体和二聚体的肌球蛋白并存。所以说,二聚体肌球蛋白并不仅仅存在于高等软体动物中,在低等的软体动物中也有发现。通过对几种软体动物的肌球蛋白进行序列分析,发现两种后鳃动物——蛞蝓(*Aplysia limacina*)和黑斑海兔(*A. kurodai*)的单体肌球蛋白仅有一个组氨酸残基,又叫近端组氨酸,在肌球蛋白与亚铁血红素之间起协调作用,其缺乏远端组氨酸残基^[9,10]。尽管在脊椎动物的血红蛋白中缺少远端组氨酸残基的现象并不常见,但在无脊椎动物中确实不乏先例。如某些昆虫和环节动物的血红蛋白就缺少远端组氨酸残基^[2]。后鳃类的单体肌球蛋白序列与已知的其他球蛋白有着极大的差别,同源部分只有15~20左右,而这两种后鳃类的肌球蛋白则有着85的同源性,仅有21个氨基酸发生替换和1个缺失部分。同样两种前鳃类动物——红树拟守螺、蛾螺(*Busycon*)的二聚体肌球蛋白序列与其他任何球蛋白有很少的同源性,仅10~20%,与后鳃类肌球蛋白也仅有16%的同源性,然而两种肌球蛋白之间至少有50%的同源性。这种同源性与它们的分类位置相符。其血红蛋白的氨基酸组成的差异也同样能说明问题。

收稿日期:1996年6月3日

通过对肌球蛋白氨基酸序列的比较可以发现,由于肌球蛋白和血红蛋白的结构经过了数亿年的变异成为现在这种状态,海兔和蛾螺的肌球蛋白的氨基酸序列有 85% 的差异,这种变异需要一个很长的时间。现在知道的最早的软体动物的化石发生于大约 6×10^7 a 以前,为这一现象找出一个比较合理的解释是软体动物的肌球蛋白的进化速度要比脊椎动物肌球蛋白进化速度要快得多,如果血呼吸蛋白对于软体动物的生存不很重要的话,那么这个结论应是很正确的。另一个有趣的可能性是单体肌球蛋白和二聚体肌球蛋白并不是同一起源,它们可能来源于不同的细胞色素前体。

齿舌肌肉中含有的二聚体的肌球蛋白是否比单体蛋白更具优越性?现在已经证明,无论是单体还是二聚体的肌球蛋白皆不存在氢离子、二氧化碳或者无机磷引起的变构调整性。有些二聚体的肌球蛋白具有一定的氧结合能力,而有些则没有。但总的来说,二聚体肌球蛋白比单体肌球蛋白的氧亲和力大一些^[8]。

是不是二聚体的肌球蛋白更有利于氧的扩散呢?这个观点还没有被实验证实,现代理论计算表明,尽管在肌肉中肌球蛋白大大提高了它们的代谢能力,但在外部氧压为 3 333 Pa 以下时,具协同性的肌球蛋白的携氧力与非携同性肌球蛋白的携氧力没有什么区别。只有当氧压大于 3 333 Pa 时,协同性肌球蛋白才显露出其优越性来。这是否意味着软体动物和脊椎动物的肌球蛋白的功能不同呢?或者说其组织的需氧量不同呢?或者是否可能是软体动物的肌球蛋白除了与氧结合外还参加其他酶的活动呢?

在一些双壳类中也有肌球蛋白。它们存在于闭壳肌、心肌及足部,在有些种类中,其浓度可达 2%,并与神经系统存在着一些关联^[7]。牛排蛤(*Saxidomus nuttalli*)的名字来源于其具有的深红色的闭壳肌、心脏及足部,这种颜色是因为其含有两种肌球蛋白单体,这种双壳类富含肌球蛋白组织,一般生活在泥滩中,其生境与另一种不含肌球蛋白的异齿型的双壳类相似。所以,肌球蛋白浓度的不同是否与其厌氧代谢能力有关这一问题仍未搞清楚。

2 循环系统细胞内的血红蛋白

只有少数几种双壳类的动物具有循环的血红蛋白,并且其血红细胞中一般含二聚体和四聚体的血红蛋白。其中二聚体含有两个相同或相似的亚基,分子量为 15 000~ 16 000,四聚体则具有 $\alpha\beta$ 型结构,在所有既含有四聚体又含有二聚体的种类中,四聚体占总蛋白量的 60%。有的双壳类仅含二聚体蛋白。有些双壳

类则比较特殊,含有 60% 的四聚体和 40% 的多聚体血红蛋白,而不含二聚体蛋白。有一种血红蛋白含特殊的亚基,分子量为 32 000~ 34 000,每个肽链具有两个血红素基团。四聚体和多聚体多肽亚基的体积,电泳特性及氨基酸组成差别很大。不同血红蛋白亚基的接合点有着极大的不同。虽然软体动物血红蛋白的单个亚基聚成二聚体的方式与脊椎动物不同,但有些软体动物的四聚体血红蛋白的二聚体亚基可以与脊椎动物的 HBA 的二聚体亚基进行杂交,这就说明它们的结合面结构有相似性。通常双壳类细胞内血红蛋白的氧亲和性较低,比脊椎动物的低,其协同性与其他无脊椎动物相近,但比脊椎动物的低。

3 细胞外的血红蛋白

在腹足类、多板类及头足类等软体动物内普遍存在的呼吸蛋白为含铜的血清蛋白^[13],仅在少数的腹足类和瓣鳃类动物中有细胞外血红蛋白存在。在环节类动物中,细胞外血红蛋白是随机发生的,并且具有稳定的四级和亚基结构。而软体动物的两个纲中的细胞外血红蛋白有着令人惊异的差别。

肺螺类血红蛋白每 1 700 g 内含 1 g 血红素,其亚基链分子量为 175 000~ 200 000,每个亚基含有 10~ 12 个氧结合点。有趣的是肺螺类的血红蛋白有 60~ 70% 是螺旋结构,这一点与脊椎动物相似。异齿型的双壳类的血红蛋白具有非常特殊的四级结构,分子大,分子量为 $8 \times 10^6 \sim 12 \times 10^6$ ^[4],其分子在电子显微镜下呈棒状,宽 34 nm,长 34~ 120 nm,因为其长度不等,它们可能由不同个小亚基组合而成。其亚基也相对较大,分子量为 240 000~ 320 000,每 17 000~ 201 000 g 蛋白含有 1 g 血红素^[12],每个血红蛋白分子具有 18~ 20 个氧结合点。

总的来说,双壳类及肺螺类的细胞外血红蛋白皆具有高度的 α -螺旋结构,经温和降解后都可得到分子量为 15 000~ 17 000 的氧结合区域(片段),这与传统的血红蛋白亚基体积相似。两类动物都可合成单体肌球蛋白,这说明它们皆具有分子量为 15 000~ 17 000 的血红蛋白基因。这些相似性说明其亚基的起源是相同的。

软体动物的血红蛋白和肌球蛋白分子结构特殊,从单聚体的血红蛋白到多聚体的大分子血红蛋白分子皆有。同时它们具有令人感兴趣的二聚体和四聚体结构,并且与脊椎动物血红蛋白的二聚体结构有相似性。再加上软体动物血红蛋白结构多变,所以更具有研究意义。只有我们完全搞清了它们的 DNA 序列后,才能

对它们有更好的认识,这样对它们的研究会更具意义。

参考文献

- [1] Bannister W. H. , Bannister J. V. and Micallet H. , 1968. *Comp. Biochem. Physiol.* 24: 1 061-1 063.
- [2] Imamura T. , Baldwin T. O. and Riggs A. , 1972. *J. biol. Chem.* 247: 2 785-2 797.
- [3] Maxwell C. , 1958. *Archs Biochem. Biophys.* 89: 194-201.
- [4] Prosser C. L. , 1973. *Comparative Animal Physiology.* 317-361.
- [5] Read K. R. H. , 1966. *Physiology of Mollusca* 2: 209-232.
- [6] Read K. R. H. , 1968. *Comp. Biochem. Physiol.* 25: 81-94.
- [7] Schindelmeiser I. , Kuhlmann D. and Nolte A. , 1979. *Comp. Biochem. Physiol.* 64B: 149-154.
- [8] Sekino T. , Focesi A. Jr, et al. , 1981. *Comp. Biochem. Physiol.* 61A: 223-226.
- [9] Suzuki T. , Takagi T. and Shikama K. 1981. *Aplysia kurodai. Biochim. biophys. Acta* 669: 79-83.
- [10] Tentori L. , Vivaldi G. , et al. , 1973. *Int. J. Pept. Protein Res.* 5: 182-200.
- [11] Terwilliger R. C. and Read K. R. H. , 1970b. *Int. J. Biochem.* 1: 445-450.
- [12] Terwilliger R. C. , Terwilliger N. B. and Arp A. , 1983. *Science, Wash.* 219: 981-983.
- [13] Van Holde K. E. and Miller K. I. , 1982. *Q. Rev. Biophys.* 15: 1-129.
- [14] Yager T. , Terwilliger N. B. , et al. , 1982. *Biochim. biophys. Acta.* 709: 194-203.