

日本血吸虫蛋白水解酶 对不同宿主血红蛋白降解作用的研究

1 武汉市职工医学院寄生虫学教研室 武汉 430016 2 同济医科大学寄生虫学教研室 武汉 430030

宋文剑¹ 冯友仁² 孔 争¹ 杨金荣¹

日本血吸虫的终宿主为哺乳动物,血吸虫在哺乳动物体内生长发育的主要营养来源于宿主的血红蛋白(Hb),血吸虫肠道中具有专一降解宿主血红蛋白的蛋白水解酶^[1,2]。不同的哺乳动物对日本血吸虫的相容性不同^[3]。本文就日本血吸虫对不同宿主Hb的降解作用进行了研究。

材料与方 法

1 血吸虫蛋白水解酶的制备及酶活性测定

1.1 家兔经腹部皮肤感染日本血吸虫尾蚴1 000条,45 d剖杀。按Dresden方法^[4]收集成虫,用生理盐水洗2次,蒸馏水洗1次后吸干水分,取成虫50条,加pH 4.0、0.2 mol/L柠檬酸盐缓冲液于玻璃研磨器中,置冰水浴,充分研磨,4℃冷浸2 h后,10 000 g离心10 min,用美国Pierce公司试剂盒(BCA-reagent)测上清液蛋白质含量,分装后,置-40℃保存备用。

1.2 取浓度为100 mg/ml的人Hb 80 ml,蛋白含量为1 mg/ml的蛋白水解酶120 μl,加入pH 4.0、0.04 mol/L柠檬酸盐缓冲液800 μl中,置37℃温育。2 h内,每隔30 min,移出200 μl反应液,最后加入终浓度为7%的三氯醋酸终止反应,10 000 g离心10 min,用紫外分光光度计,于280 nm处,测不同时间反应液上清的消光值,并绘制酶活性曲线。

2 血红蛋白的制备 人血红蛋白由上海市医学生物化学研究所提供,黄牛、绵羊、家兔和小鼠血红蛋白由Sigma公司提供。家鸡血红蛋白制备方法如下:切断家鸡颈动脉,将血收集于含柠檬酸抗凝剂的烧杯中,混匀后3 000 g离心5 min,弃上清。沉淀物用生理盐水洗3次后,加入2倍体积的pH 8.6巴比妥缓冲液,反复冻融后10 000 g离心10 min,收集上清,用上法测蛋白质含量后,置-40℃保存备用。大鼠血红蛋白的制备同家鸡。

3 蛋白水解酶对不同宿主Hb降解能力的测定 调整各待测Hb的浓度至100 mg/ml,各取80 μl,分别加入120 μl的蛋白水解酶(蛋白质含量为1 mg/ml)中,再加入pH 4.0、0.04 mol/L柠檬酸盐缓冲液800 μl,将总体积为1 000 μl的反应液置37℃温育2 h后,加终浓度为7%的三氯醋酸终止反应,10 000 g离心10 min,用紫外分光光度计于280 nm处测各上清液的消光值。

结果与讨论

酶活性测定显示,由日本血吸虫提取的蛋白水解酶对人Hb具有降解作用。在0~90 min内,降解程度随着时间延长而呈线性增加。90 min后,Hb的降解程度趋于稳定。在相同

条件下,日本血吸虫蛋白水解酶对不同宿主Hb降解作用的强弱依次为羊、人、黄牛、大鼠和鸡。人、牛、羊、兔和小鼠Hb的降解作用无显著性差异($P > 0.05$),但均明显高于大鼠和鸡($P < 0.05$)。

宿主对寄生虫的相容性和寄生虫对宿主的特异性是宿主与寄生虫在长期进化过程中形成的,不仅与环境而且与两者的遗传基因密切相关。日本血吸虫对终宿主——哺乳动物的选择性范围较广,但不同哺乳动物对血吸虫的相容性有所不同。何毅勋等^[3]报告在相同条件下,日本血吸虫在山羊、小鼠、家犬、家兔、猴、黄牛、豚鼠、绵羊、大鼠和猪体内的发育率依次为60.3%、59.3%、59.0%、52.3%、46.0%、43.6%、35.2%、30.3%、20.9%和8.5%,马和水牛的均在1%以下。在这些宿主中,成熟血吸虫的大小相关明显,雄虫在黄牛体内着壳,且大鼠未见虫卵^[3],此结果进一步提示,营养障碍可能是虫体在宿主体内正常发育的重要原因之一。已知在宿主血清中存在蛋白酶抑制物^[5],日本血吸虫Hbase对不同动物Hb降解能力的差异可能与此有关。对日本血吸虫相容性较差动物可能高于适宜的终宿主。羊、人、黄牛、家兔及小鼠为日本血吸虫适宜宿主,大鼠为日本血吸虫的非适宜终宿主,而鸡为非终宿主。本研究结果证明,日本血吸虫蛋白水解酶对适宜终宿主Hb的降解作用明显高于非适宜终宿主及非终宿主($P < 0.05$)。提示日本血吸虫在动物体内的发育率,可能与血吸虫蛋白水解酶对不同动物Hb的降解能力有关。

参 考 文 献

- 1 Timms AR, Bueding E. Studies of a proteolytic enzyme from *Schistosoma mansoni*. Br J Pharmacol 1959; 14:68
- 2 Zussman RA, Bauman PM, Petruska JC. The role of ingested hemoglobin in the nutrition of *Schistosoma mansoni*. J Parasitol 1970; 56:75
- 3 赵慰先,高淑芬主编 实用寄生虫病学 北京:人民卫生出版社,1996:17~18
- 4 Dresden MH, Deelder AM. *Schistosoma mansoni*; thiol proteinase properties of adult worm "hemoglobinase". Exp Parasitol 1979; 48:190
- 5 赵慰先主编 人体寄生虫学 第二版 北京:人民卫生出版社,1994:339~340

1997年10月21日收稿,1998年2月10日修回
(编辑:庄兆农)