

原鸡不同组织乳酸脱氢酶同工酶研究

刘如笋 俞清

(中国科学院动物研究所 北京 100080)

摘要 本文对中国原鸡的血浆、心脏肌肉和肝脏等不同组织,用薄层等电聚焦电泳进行乳酸脱氢酶同工酶试验比较。结果表明,原鸡不同组织在 pH3.5—9.5 时,电泳图和相应的扫描图有显著差异。

关键词 原鸡 等电聚焦电泳 乳酸脱氢酶同工酶

中国原鸡隶属原鸡属红原鸡(*Gallus gallus*)。原鸡在自然界的数量越来越少,已被列为国家保护动物;而且因为原鸡是家鸡的祖先,近年来引起国内外同行的关注,研究工作不断深入。

本文用聚丙烯酰胺薄层等电聚焦电泳方法,对原鸡不同组织,如心脏肌、肝脏和血浆进行乳酸脱氢酶(LDH)同工酶试验,发现它们在 pH3.5—9.5 范围内有显著不同。Wilson 认为鸟类的 LDH 同工酶电泳区带泳动率较低,用普通电泳方法难以把它们分开^[1]。近年来,采用分辨率高的薄层等电聚焦电泳方法,分析 LDH 同工酶,取得了很大进展。在国内,此方法用在鸟类研究中较少,用在野生保护动物中就更少。

1 材料和方法

1.1 实验材料 原鸡采自云南省西双版纳,隶属滇南亚种(*G. g. spadiceus*),近 20—30 年来数量明显下降。1992 年底至 1993 年初从西双版纳获得 3 只(2 雄 1 雌)活的成体。取新鲜材料,经处理后进行聚焦电泳分离。

1.2 样品制备 将新鲜材料(或 -25℃ 保存材料)用生理盐水洗去肝脏、心脏组织的污血,按 1:20(g/ml)的比例在 0.01mol/L 磷酸缓冲液(pH7.4)中匀浆。然后,在 2℃,8000Xg,20min,取其上清液即得到匀浆样品。

血浆样品是将原鸡翅静脉抽取的血样用肝素抗凝。然后 3500Xg 离心 15min,取上清液稀释后电泳。

1.3 电泳方法 聚丙烯酰胺薄层等电聚焦电

泳,按刘如笋方法^[2]使用 LKB 公司 2117 多用电泳仪。电压 1400V 预电泳,30min 后加样品,电压升至 1600V;电流设置在 30mA,用自制 7% 胶联度,0.5mm 薄层胶。两性载体 Ampholine pH3.5—9.5。4℃ 恒温冷循环条件下进行聚焦电泳。电泳时间 2h,然后取出电泳好的胶板,在 37℃ 培养箱进行乳酸脱氢酶染色,按吴鹤龄、林锦湖方法^[3]。

2 实验结果

用薄层聚丙烯酰胺等电聚焦电泳方法,获得原鸡成体不同组织在 pH3.5—9.5 时的电泳图谱,它们分别为原鸡心脏肌肉、肝和血浆的 LDH 同工酶区带图(见图版 I),并用光密度扫描仪扫描,各组织的曲线清楚显示(见图 1、2、3)。

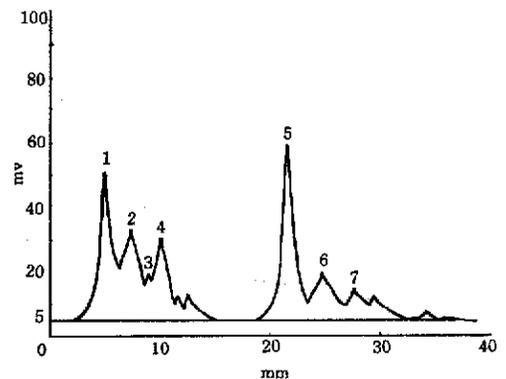


图 1 原鸡心肌乳酸脱氢酶(LDH)同工酶扫描曲线

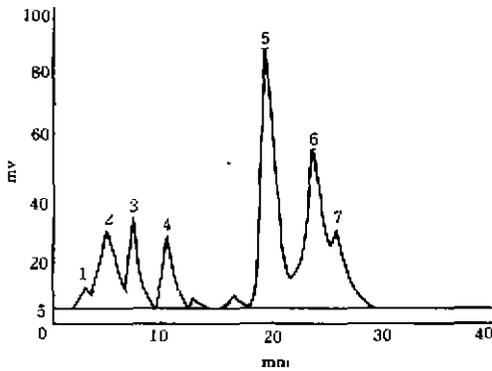


图2 原鸡血浆乳酸脱氢酶同工酶扫描曲线

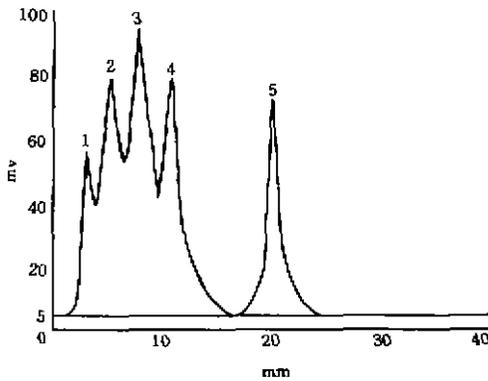


图3 原鸡肝脏乳酸脱氢酶同工酶扫描曲线

从曲线图看出,心肌中的LDH同工酶主带为第5条,其次是第1条,而第2、3、4、6、7条带峰高较弱,但第2条带更强。肝脏内的LDH同工酶比心肌和血浆中含量丰富,显示在曲线上是峰高而且宽。主峰为第3条,其次是2、4、5峰高几乎一致,但2、4更宽,而且紧靠3、4峰有加宽部分,实际上是由于LDH浓度高造成的拖尾,因距离太近,而曲线基部未明显地分别显示出来。血浆主带同心肌相同为第5条带,其次是第6条,并比心肌第7条带明显,而肝脏缺第6、7条带。

综上所述三种组织有共同的条带1、2、3、4、5,只是它们强弱变化较大,但肝脏LDH 1、2、3、4最强。相比之下,第5条较稳定,它在三种组织都较强,而在血浆中最为丰富。

3 讨论

用于分类的酶在生物中研究占有相当比例,这不仅是因为酶在生物中普遍存在,而且用微量样品也能检测出来。乳酸脱氢酶这类同工酶是了解得最清楚的一种糖代谢的关键酶^[4]。Frank^[5]、Schultz^[6]在鸟类研究中为同工酶的应用提供了理论基础。李士鹏、吴鹤龄^[7]对北京鸭乳酸脱氢酶进行了研究。在两栖类、爬行类对血液和几种组织中LDH同工酶已有报道,而在鸟类中报道极少。

本文用等电聚焦电泳方法对原鸡不同组织LDH同工酶进行的比较研究,说明用LDH同工酶的在生物化学和遗传变异方面也是比较理想的。能反映不同生物不同组织中LDH同工酶的变化情况。在电泳图谱上捕捉蛋白质在生物遗传上的变化。北京鸭和家鸡LDH同工酶的等电点一般地相应偏高一些,且集中于一个较为狭窄的中性pH范围内^[5-7]。Lindsay^[8]用琼脂胶电泳实验分离成体鸡各种组织的LDH,心肌在pH7.0附近,偏向阳极只有2条带,肝4条带。在作原鸡不同组织的LDH同工酶采用了pH3.5—9.5范围的两性载体分离,区带间基本清楚分开,作为直接观察或作光密度扫描分析研究是可取的。

参考文献

- Wilson, A. C., N. O. Kaplan and Levinel et al. Evolution of lactic dehydrogenases. *Fed. Proc.*, 1964, 23: 1258—1266
- 刘如笋. 用等电聚焦技术对三种马亲缘关系的研究. *动物学报*, 1985, 31(3): 206—213.
- 吴鹤龄、林锦湖. 遗传学实验方法和技术. 北京: 高等教育出版社, 1983. 261—280.
- 扬幼凤、卢浩泉. 蛋白质电泳在动物分类学中的应用. *动物学杂志*, 1988, 23(3): 45—50.
- Frank, N. S. and G. Morris. Polymorphism of lactate dehydrogenase in Gelada, Baboons. *Science*, 151: 206—208.
- Schultz, G. A. and R. F. Ruth. The lactate dehydrogenases of the chicken. *Can. J. Biochem.*, 1968, 46: 555.
- 李士鹏, 吴鹤龄. 北京鸭乳酸脱氢酶同工酶的研究. *遗传学报*, 1986, 13(1): 60—65.
- Lindsay, T. D. Isozymic patterns and properties of lactate dehydrogenase from developing tissues of the chicken. *J. Exp. Zool.*, 1963, 152(1): 75—90