

中国大鲵及鳖不同组织 LDH 同工酶的比较研究*

李永通 向应海

(贵州省生物研究所贵阳市 550009)

杨业勤

(贵州梵净山保护区)

Q959.520.8
10.16

摘要 采用聚丙烯酰胺薄层垂直板状凝胶电泳、特异性的组织化学染色及光密度薄层扫描研究的心、肝、肾、眼球、小肠、胸肌、脾脏、卵巢、胰腺、胃肌、血浆等 12 种组织的乳酸脱氢酶 (LDH) 同工酶的酶谱。并与爬行类动物鳖不同组织的 LDH 同工酶作了比较。结果表明中国大鲵的胸肌、肝脏、肾脏具有 LDH¹⁰⁰、LDH⁶⁰、LDH⁷⁰ 3 种同工酶;胃肌有 LDH¹⁰⁰、LDH⁷⁰、LDH⁶⁰ 同工酶,其它组织只有 LDH¹⁰⁰、LDH⁶⁰ 2 种。故按组织特异性区分,大鲵组织的 LDH 同工酶具有 3 种谱型,它们的含量及相对活力也有很大的差异。鳖的 LDH 同工酶迁移率比大鲵的低,是一组阴极性同工酶,其等电点比大鲵的高,但其 LDH 同工酶与中国大鲵的有很大的差异,且两种动物都具有 LDH⁶⁰。

乳酸脱氢酶 (LDH) 同工酶的研究始于 50 年代末,已经证明: LDH 同工酶系统具有明显的种族及组织特异性。作为一种生化遗传学指标, LDH 同工酶已广泛应用于物种鉴定、物种间的亲缘关系及系统分类、进化理论和种群遗传分析等研究领域^[1,7]。

大鲵 (*Andrias davidianus*) 是我国特产的大型两栖动物。关于它的解剖、形态、胚胎发育、核型等研究已有报道^[3,4,9]; 但有关它和鳖 (*Trionyx sinensis*) 的 LDH 同工酶的组织分布问题,国内尚未见公开的报道。故特作其的 LDH 同工酶分析,并加以比较。

(一) 材料和方法

1. 材料来源 大鲵标本采自贵州省梵净山地区, 2 雌 1 雄, 全是成体。鳖来自贵州省剑河县。1 雌 1 雄, 成体。

2. 样品制备及同工酶分离 临实验前处死动物, 取心、肝、肾、眼球、胸肌、脾、肺、卵巢、小肠、胰腺、胃肌、胆汁、血浆等组织。除血浆、胆汁。

其它组织用磷酸缓冲液 (pH: 7.1) 进行匀浆, 离心后取上清液备用。双垂直板聚丙烯酰胺凝胶电泳, 分离胶浓度 7% (pH: 8.9), 厚度 1 毫米。电极缓冲液为 Tris-Gly (pH: 8.3), 在 1.5V/cm 的电压梯度下电泳 6 小时。

3. 同工酶的保温、染色及扫描 电泳结束后, 置凝胶于 37℃ 的染色液中避光保温、染色 0.5 小时显出紫色的酶带。每 100 毫升染色液含: 40 毫升 Tris-HCl 缓冲液 (pH: 7.1), 80 毫克辅酶 I, 50 毫克氯化硝基四氮唑蓝及 2 毫克吩嗪二甲酯硫酸盐, 0.5 毫升乳酸钠 (10mol/L), 5 毫克氯化钠。染色后的凝胶经 7% 乙酸固定、脱底色后制成干胶片, 供拍照及扫描。扫描用日本岛津产的 CS-930 型双波长薄层色谱扫描仪, 波长 370 纳米, 速度 10 毫米/分。

(二) 结果与分析 大鲵组织的乳酸脱氢酶 (LDH) 具有 4 种同工酶, 依照它们的迁移率,

* 本文承吴至康先生审阅并提出宝贵意见、何平同志为插图复墨, 谨此致谢。

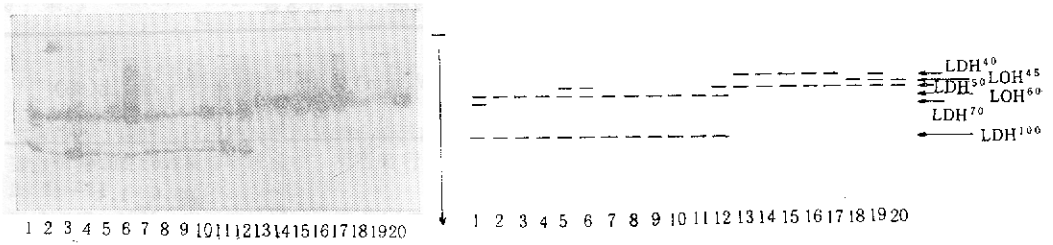


图1 大鲵与鳖不同组织的 LDH 同工酶电泳图谱

中国大鲵(1—2): 1.胃;2.胰;3.心;4.小肠;5.肝;6.胸肌;7.眼球;8.肺;9.血浆;10.脾;11.卵巢;12.肾。
 鳖(13—20): 13.肾;14.肝;15.心;16.眼球;17.胸肌;18.胆汁;19.血浆;20.小肠。

表1 中国大鲵 LDH 同工酶的组织分布、相对活力及百分含量

组织	谱型	相对活力 (UV, mm)	百分比 (%)
胃肌	LDH ¹⁰⁰ , LDH ⁷⁰ , LDH ⁶⁰	26.0, 10.7, 46.1,	31.4 12.9 55.7
胸肌	LDH ¹⁰⁰ , LDH ⁶⁰ , LDH ⁵⁰	7.0 28.1 29.2	10.9, 43.7 45.4
肝脏	LDH ¹⁰⁰ , LDH ⁶⁰ , LDH ⁵⁰	7.9 37.3 26.1	11.1 52.3 36.6
肾脏	LDH ¹⁰⁰ , LDH ⁶⁰ , LDH ⁵⁰	28.3 26.7 32.2	32.5 30.6 36.9
小肠	LDH ¹⁰⁰ , LDH ⁶⁰	21.2 37.0	36.4 63.6
血浆	LDH ¹⁰⁰ , LDH ⁶⁰	20.3 38.5	34.5 65.5
眼球	LDH ¹⁰⁰ , LDH ⁶⁰	25.7 44.3	36.7 63.3
心肌	LDH ¹⁰⁰ , LDH ⁶⁰	32.5 27.8	53.9 46.1
卵巢	LDH ¹⁰⁰ , LDH ⁶⁰	46.1 13.2	77.7 22.3
脾脏	LDH ¹⁰⁰ , LDH ⁶⁰	18.7 60.8	23.5 76.5
肺脏	LDH ¹⁰⁰ , LDH ⁶⁰	23.7 31.4	43.0 57.0
胰腺	LDH ¹⁰⁰ , LDH ⁶⁰	20.3 53.0	27.7 72.3

把最快的酶带命名为 LDH¹⁰⁰, 次之为 LDH⁷⁰ 等。按照 LDH 同工酶的谱型, 可把它分成三类: ①胃肌, 它具有 LDH¹⁰⁰, LDH⁷⁰, LDH⁶⁰ 3种同工酶。其中 LDH⁷⁰ 仅存在于胃肌中。②胸肌、肝脏、肾脏中有 LDH¹⁰⁰, LDH⁶⁰, LDH⁵⁰。③小肠、血浆、眼球、心肌、卵巢、脾、肺、胰腺等 8 种组织, 它们只有 LDH¹⁰⁰, LDH⁶⁰ (见图 1 和表 1)。

与兽类及鸟类相比较, LDH¹⁰⁰ 相当于 LDH₁ 迁移的位置; LDH⁶⁰ 相当于 LDH₂。LDH⁵⁰ 是阴极端的同工酶, 它类似于 Markert 等报道的 LDH-C₄ 同工酶, 这有待于进一步的研究。

在酶谱特征方面: 除了心肌、肾、卵巢中 LDH¹⁰⁰ 的相对活力比 LDH⁶⁰ 的高 (表 1 和图 2); 其它组织都是 LDH⁶⁰ 活力占优势。

与大鲵相比, 鳖的 LDH 同工酶都是阴极性的 (图 1)。这表明它的 LDH 同工酶等电点比大鲵的高 (见表 2)。

鳖的组织 LDH 同工酶可分为三种类型。

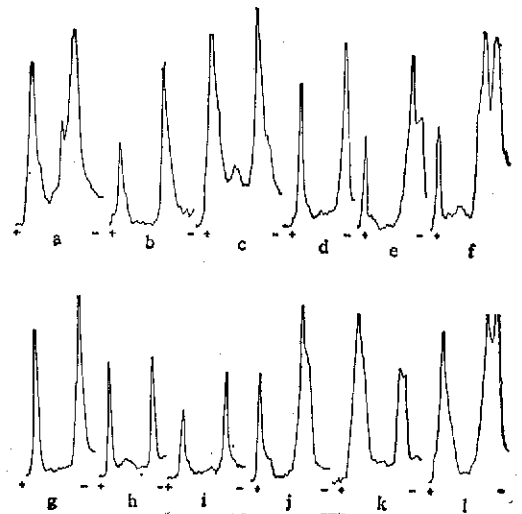


图2 大鲵不同组织的 LDH 同工酶扫描曲线 a:胃; b:胰; c:心肌; d:小肠; e:肝; f:胸肌; g:眼球; h:肺; i:血浆; j:脾; k:卵巢; l:肾。

表2 鳖 LDH 同工酶的组织分布、相对活力及百分含量

组织	谱型	相对活力 (UV,mm)	百分比(%)
胸肌	LDH ³⁰ , LDH ⁴⁰	17.0 17.3	49.6 50.4
眼球	LDH ³⁰ , LDH ⁴⁰	89.9 1.3	98.6 1.4
心肌	LDH ³⁰ , LDH ⁴⁰	34.7 26.3	56.9 43.1
肝脏	LDH ³⁰ , LDH ⁴⁰	87.9 2.0	97.8 2.2
肾脏	LDH ³⁰ , LDH ⁴⁰	33.2 51.8	39.1 60.9
小肠	LDH ³⁰ , LDH ⁴⁵	31.7 42.5	42.7 57.3
胆汁	LDH ³⁰ , LDH ⁴⁵	15.5 29.0	34.8 65.2
血浆	LDH ³⁰ , LDH ⁴⁵ , LDH ⁴⁰	20.2 19.5 16.8	35.7 34.5 29.7

第一种为胸肌、眼球、心肌、肝、肾，它们有 LDH³⁰, LDH⁴⁰ 二条酶带；第二种为小肠及胆汁，它们含有 LDH³⁰, LDH⁴⁵；第三种为血浆，具3条酶带。在血浆、眼球、心肌及肝脏中，LDH³⁰ 的相对活力最高，而在小肠、胸肌、肾、胆汁中 LDH³⁰ 的相对活力都较低(表2)。

但在减数分裂的染色体行为上，它又类似于其它较先进的两栖类^[9]。该动物具有原始和进化的二重性。所以在某种程度上，本研究的结果也说明了这一点。

大鲵为肉食性，大部分时间生活在山区的溪水中。据笔者观察，该动物畏光、白天不活动，子夜活泼并开始觅食。它耐饿，数月不进食也不会死亡且有冬眠习性。大鲵独特的生态习性必然反映在它的生理生化过程上。据研究心肌 LDH₁ 同工酶主要是由 B 基因调控的，催化乳酸至丙酮酸的转化，而胸肌等组织的 LDH 主要是以 A 基因表达为主，催化丙酮酸至乳酸的过程，属于厌氧的糖酵解过程^[6]。由于大鲵长期生活于水中，缺氧的环境促进了 LDH-A 基因的表达，这在小肠、肝、脾等组织中都得到体现。与其它动物一样，心肌行有氧化代谢故是以 B 基因表达为主。胃肌由于大鲵的耐饿、肉食性，故具独特的 LDH 酶谱。

鳖是长期生活于水域中的较低等的爬行类。它的组织 LDH 同工酶都是阴性的，与低等的硬骨鱼类相似^[8]。鳖与大鲵 LDH³⁰ 迁移率的一致性可能是由于长期生活于水域中的生态习性相似，构成该二种动物生化遗传学上的某些一致性。

长期以来，关于大鲵的分类地位有着不同的看法^[1]，它在进化阶梯上有着特殊的地位。分类学特征是个综合的生物学概念，生化遗传学指标资料的积累将为该动物的形态分类学提供另一方面的佐证。

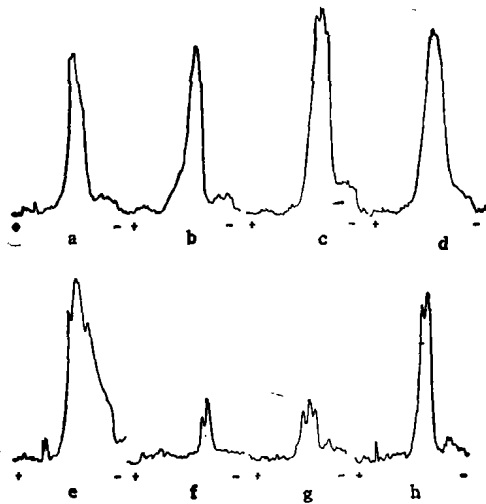


图3 鳖不同组织的 LDH 同工酶扫描曲线 a: 肾; b: 肝; c: 心肌; d: 眼球; e: 胸肌; f: 胆汁; g: 血浆; h: 小肠。

大鲵与鳖组织 LDH 同工酶谱型的一个共同特点是：二种动物的 LDH³⁰ 迁移率相同，在凝胶板处于一直线(见图3)。

(三) 讨论 大鲵(*Andrias davidianus*)属于隐鳃鲵科大鲵属，从一般形态学、古生物学和生活史来说，该科通常被认为是无尾目中最原始的成员，故被归在隐鳃鲵亚目中^[2]。Stanley 通过核型分析表明大鲵属于比较原始的类型，

参 考 文 献

- [1] 史瀛仙等 1984 扬子鳄与密西河鳄血清蛋白、白红蛋白和乳酸脱氢酶凝胶电泳比较 两栖爬行动物学报 2: 21—24
- [2] 田婉淑等 1986 中国两栖爬行动物鉴定手册 35—39 科学出版社
- [3] 阳爱生等 1983 大鲵胚胎发育的初步研究 动物学报 29(1): 42—47
- [4] 吴翠蘅 1982 中国大鲵的外形及骨骼解剖 动物学杂志 (1): 11—15
- [5] 吴力钊等 1987 草鱼同工酶发育遗传学研究 遗传学报 14(4): 278—286
- [6] 李士鹏 1987 LDH 同工酶发生遗传学探讨 生物科学动态 (2): 14—18
- [7] 郑子修等 1987 树鼯血清乳酸脱氢酶同工酶的研究 兽类学报7(3): 182—188
- [8] Markert C. L. *et al.* 1975 Evolution of a Gene. Multiple Genes for LDH Isozymes Provide a Model of the Evolution of Gene Structure, Function, and Regulation. *Science* 189: 102—114.
- [9] Stanley K. *et al.* 1982 Cytogenetics of the Chinese Giant Salamander, *Andrias davidianus* (Blanchard): The Evolutionary Significance of Cryptobranchoid Karyotypes. *Chromosoma (Berl)* 56: 341—357.

白长角羚; 饲养; 繁殖;