

乌鳢组织内三种同工酶的研究

郝泗城 彭永康

(天津师范大学生物系 300074)

摘要 本研究对乌鳢 9 种组织内的 LDH、MDH 和 ATPase 同工酶作了分析,结果表明,乌鳢各组织内的 LDH、MDH 有明显的组织特异性,LDH 由两个基因编码。骨骼肌中的 s-MDH 也有两个基因编码。ATPase 同工酶存在于乌鳢的多种组织中,其基因编码数有待进一步探讨。

关键词 LDH 同工酶 生化遗传学 乌鳢 ATPase 同工酶

鱼类同工酶作为一种生化指标已广泛应用于物种亲缘关系比较及系统分类^[1,2]、物种的倍性与杂种鉴定^[3,4]、发育遗传^[5]和基因连锁分析等^[6,7]。但这些研究多偏重于经济养殖鱼类,对野生鱼同工酶的研究较少,我国的野生鱼类资源十分丰富,为此,我们对经济价值较高、适合于人工养殖的珍贵野生鱼类组织同工酶作了初步分析,用以探讨野生鱼类同工酶系统的遗传基础,为种群遗传结构分析、人工驯养选种等提供生化遗传学指标。本文报道的是乌鳢 9 种组织内 LDH、MDH、ATPase 的电泳分析结果。

1 材料与方法

1.1 实验材料 乌鳢 (*Channa argus*) 取自天津市西郊养殖场。经鉴定后在室内人工饲养 2 周备用。实验用鱼均为性成熟健康个体(♂)、体重在 171—230.5 克之间,共检测 7 条实验用鱼。

实验用鱼先经蒸馏水冲洗后经心脏抽血,然后解剖摘取鳍、鳃、脾、鳔、心肌、胃、肝和骨骼肌等 9 种组织。将各组织置于预冷至 4℃ 的蒸馏水中洗净,剪碎后放入冰浴的玻璃匀浆器中,按 1:5(w/v) 的比例加入 0.1mol/L 提取用磷酸缓冲液 (pH7.0) 匀浆,匀浆液置高速低温离心机以 30000 × g (15000rpm) 离心 15 分钟,取上清液置冰箱内备用。

1.2 电泳条件 采用聚丙烯酰胺凝胶电泳^[8],用 0.3mol/L Tris-HCl (pH 8.9) 为凝胶缓冲

系统。电极缓冲液为 0.05mol/L Tris-甘氨酸 (pH 8.3),用前以预冷的蒸馏水稀释 10 倍,凝胶浓度为 7.7%,交联剂为 2.6%,使用 Bio-Rad 多功能电泳仪,点样量为 100 微升,电泳在冰箱内 (4℃ ± 1℃) 进行,电压 120V,泳动时间为 12—14 小时。

1.3 染色 LDH、MDH 同工酶的染色按照 Shaw 和 Prasad^[9] 方法。ATPase 同工酶的染色方法根据前文^[10]。电泳结果以谱带数目、色谱扫描 (CS-930) 进行综合比较,照相记录实验结果。

2 结果与讨论

2.1 乌鳢 LDH 同工酶的组织分布与谱型特征 已知 LDH 是一种催化乳酸和丙酮酸的相互转化伴同发生辅酶 NAD 的氧化和还原的酶,这种酶由 A、B 两种亚基构成,呈 5 种不同分子形式的四聚体,为 Ldh-A、Ldh-B 2 个基因所编码。在乌鳢的 9 种组织提取物中,我们分离出 4—5 种具有不同活力的 LDH 同工酶谱带 (图 1),其中在鳃、骨骼肌和脾脏中,呈现出 5 条清晰的 LDH 同工酶谱带,在其它所检测的 6 个组织中,呈现出 4 条 (LDH₁—LDH₄)。用 C-RIB 微机扫描所得出的相对酶活性差异看,在脾脏、心肌和血清中,LDH₃ (B₃) 同工酶的相对酶活性在各自的组织中呈高值,呈现出以需氧代谢占优势的趋势,而在骨骼肌、肝脏和鳍等组织中 LDH₄ · (A₃B) 谱带活性在各自组织的 LDH 同

工酶中表现为高值(表 1),这一结果可能与肝脏和骨骼肌中以糖的酵解反应为主有关,这一实验结果与一些学者在草鱼中所得出的结果相一致[5],但在鳍等组织中为什么 LDH_4 谱带活性呈高值还有待于进一步探讨。

关于鳊科鱼类 LDH 同工酶的研究已有一些报道,如一些学者在中国鳊科血清等组织中检测出三种不同类型的 LDH 同工酶谱型,并在晶状体中检测到 LDH-C 基因的表达^[11]。我们在乌鳊 9 种组织中检测到 4—5 种 LDH 同工酶,根据分析其酶谱的迁移率,认为由 LDH-A、LDH-B 两种基因编码,但由于没有

表 1 9 种组织内 LDH 同工酶的相对酶活性

组织	LDH ₁	LDH ₂	LDH ₃	LDH ₄	LDH ₅
血清	0.380	0.229	0.067	0.096	
心肌	0.176	0.137	0.030	0.134	
胃	0.110	0.100	0.049	0.319	
鳍	0.050	0.080	0.041	0.310	
肝	0.200	0.230	0.213	0.360	
鳃	0.200	0.170	0.090	0.241	0.070
鳔	0.300	0.060	0.040	0.343	
脾	0.370	0.183	0.070	0.100	0.041
骨骼肌	0.090	0.101	0.080	0.250	0.100

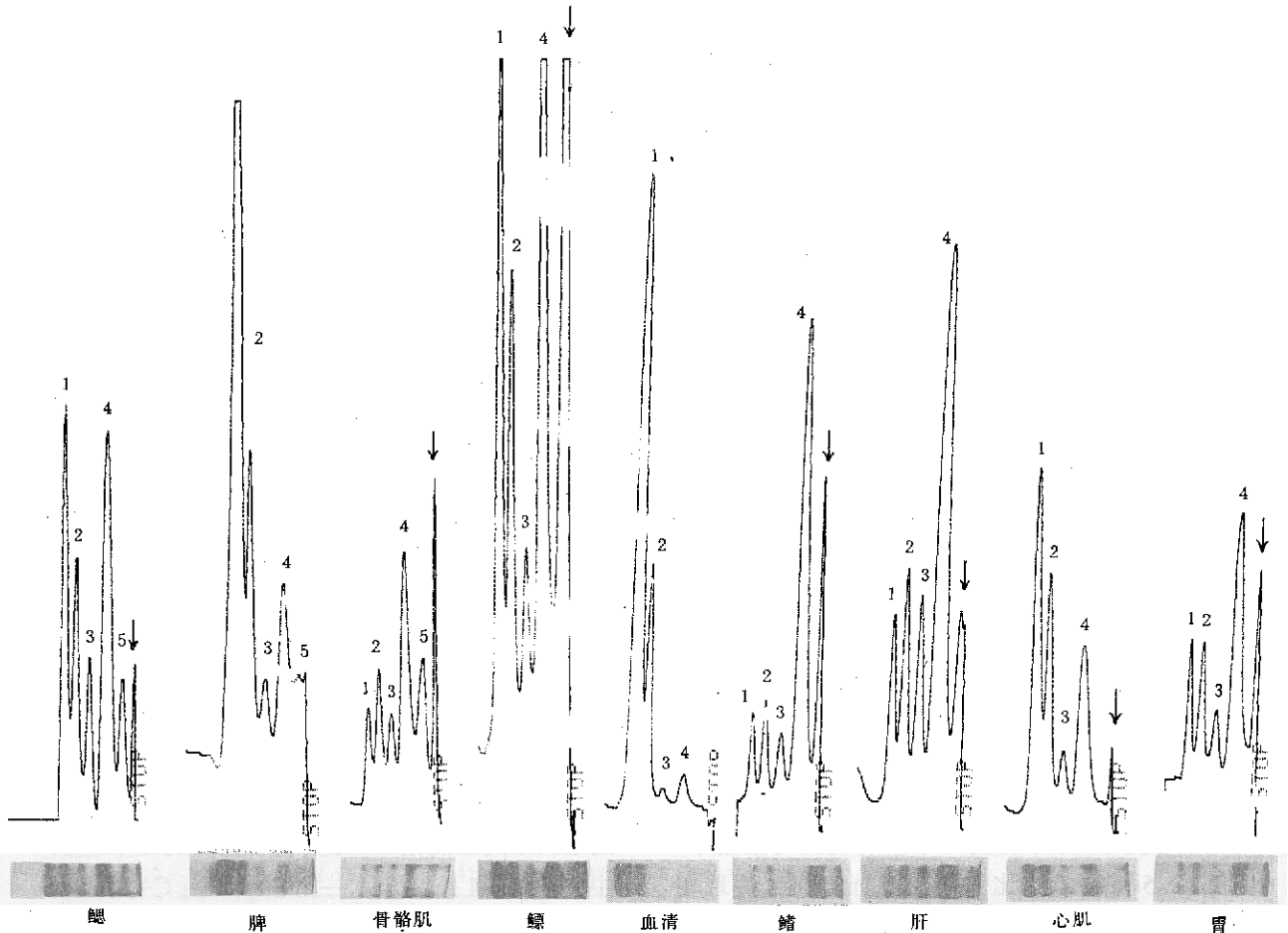


图 1 乌鳊 9 种组织内的 LDH 同工酶谱*

* 扫描图上箭头所示为本底带

检测眼组织中的 LDH 同工酶,因此未能看到 LDH-C 基因的表达,可能 C 基因是眼组织中

所特有的。

2.2 乌鳊 MDH 同工酶的组织分布与谱型特

征 据报道,动物组织中的 MDH 同工酶是以线粒体型(m-MDH)和细胞质型(s-MDH)两种形式存在的。在同一实验材料中,不同学者所估计的 MDH 基因数差异较大,如在草鱼中有人曾报道,其 s-MDH 由两个基因编码(MDH-A-B);在 m-MDH 中也有两个基因(MDH-C-D)^[5],按照这一观点,s-MDH 中,MDH-A-B 两个亚基可以组合成 3 种二聚体同工酶(B₂, AB, A₂),m-MDH 中的 MDH-C, -D 亚基也可以组合成 3 种二聚体同工酶(C₂, CD, D₂),但在实际研究工作中往往得出多于 3 种或只检测到 1 种同工酶的结果,因而也有人推测只有 1 个 MDH 基因,如有人检测到的至少在草鱼中的 m-MDH 同工酶是由 1 个基因编码。我们对乌鳢 9 种组织的检测结果表明,除骨骼肌呈现出 2 条 s-MDH 同工酶,其余 8 种组织中 s-MDH 均系单基因所编码,但由于基因的表达可受到细胞内外多种环境因素的制约,所以,对于乌鳢组织中编码 s-MDH、m-MDH 同工酶的基因数的推测需进一步积累更多的工作,才有可能得出正确的估计。

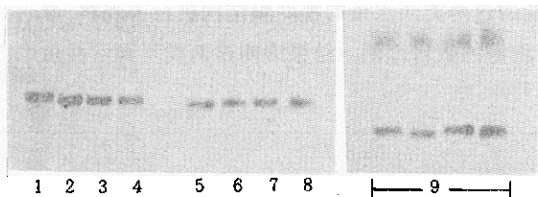


图 2 乌鳢 9 种组织内的 MDH 同工酶谱

1.鳃,2.脾,3.鳃,4.血清,5.鳃,6.肝,7.心肌,8.胃,9.骨骼肌

2.3 乌鳢 ATPase 同工酶的组织分布与谱型特征 动物中的 ATPase 是一种与细胞膜相结合的质膜蛋白质,这种酶的主要功能是参与细胞膜内外 Na、K 等多种离子的转运^[12]。目前对于这种酶的研究多侧重于活性,对于同工酶的研究颇少。从我们所检测的结果表明,这种酶的同工酶广泛存在于乌鳢的各种组织中,除鳃内尚未检测到 ATPase 同工酶外,其它组织内均可检测到 3—5 条谱带(表 2)。目前国内动物 ATPase 生理功能的研究涉及细胞质膜

内外离子转运和能量代谢等方面,但在同工酶方面尚无文献可查,因此,对于这种酶的基因编码、遗传调控本质及其它生理功能方面我们都缺少了解,但开展对于乌鳢不同组织内 ATPase 同工酶的研究可以丰富鱼类特别是珍贵野生鱼类的生化遗传学资料,这为充分利用和开发这一野生鱼类资源,建立人工驯化、养殖种群无疑是有益的。

表 2 ATPase 同工酶的组织分布

组织	血清	鳃	脾	鳃	心肌	胃	肝	骨骼肌
ATPase ₁	+	-	+	+	+	+	+	+
ATPase ₂	+	-	+	-	+	-	-	-
ATPase ₃	+	-	-	+	+	+	+	+
ATPase ₄	+	-	+	+	+	+	+	+
ATPase ₅	+	-	+	+	-	-	+	+

参 考 文 献

- 1 王春元,王长城. 金鱼酯酶同工酶的研究. 遗传学报, 1988, 15(6): 442—449.
- 2 罗莉中,王春元. 金鱼同工酶的发生遗传学研究. 遗传学报, 1987, 14(1): 1—7.
- 3 张英培,刘红,楼允东. 异育洪鲫及其双亲同工酶的比较. 遗传学报, 1990, 17(1): 34—37.
- 4 李万程. 岳鲤及其双亲(荷包红鲤♀, 湘江野♂) LDH同工酶的研究. 遗传学报, 1988, 15(1): 46—51.
- 5 吴力钊,王祖熊. 草鱼同工酶发育遗传学研究. 遗传学报, 1987, 14(4): 278—286.
- 6 吴鹤龄,李士鹏. 北京鸭同工酶的研究. 遗传学报, 1987, 14(2): 135—147.
- 7 H. 哈里斯. 人类生化遗传学原理. 1981 北京: 科学出版社.
- 8 Siciliano M J and C R Shaw, In: Chromatographic and electrophoretic techniques. Vol 2. Zone Electrophoresis, Smith, I(Ed), London, 1976 185—209
- 9 Shaw GP and Prasad, Serum LDH enzymes in studying interspecific relationship in birds. The nucleus 1986, 129(1, 2): 36—39.
- 10 彭永康,祁忠占. 低温对植物幼苗根系 ATPase 同工酶的影响. 西北植物学报, 1994, 14(3): 210—215.
- 11 王金星,周才武. 中国鳃科鱼类的乳酸脱氢酶和酯酶同工酶的比较研究. 海洋与湖沼, 1987, 18(1): 64—69.
- 12 R W Hammerton, K A Krzeminski, R W Mays et al. Mechanism for regulation cell surface distribution of Na⁺, K⁺-ATPase in polarized epithelial cell, Science 1991, 1254(8): 847—849

THREE ISOZYMES IN 9 TISSUES OF BLACK SNAKEDEAD (*CHANNA ARGUS*)

HAO Sicheng PENG Yongkang

(*Dep. of Bio, Tianjin Nor Univ. 300074*)

ABSTRACT Lactate dehydrogenase (LDH), malate dehydrogenase (MDH) and adenosine triphatase (ATPase) isozymes have been investigated in gill, spleen, swim bladder, serum, dorsal fin, liver, heart muscle, stomach, skeletal muscle of *Channa argus*. The result showed that LDH and MDH isozymes exhibit a tissues-specific expression. LDH in all tissues and s-MDH in skeletal are coded by two genes. All tissues, except for dorsal fin, 3-5 ATPase isozymes have been detected.

Key words LDH isozyme Biochemical genetics *Channa argus* ATPase isozyme.