

# 斑海豹组织 LDH 同工酶的初步研究\*

卢宝泉 王蕴玲\* 王俊莉

(天津动物园 天津 300381)

**摘要** 该文采用聚丙烯酰胺凝胶圆盘电泳技术,对斑海豹心肌、肝脏、胰腺、肾组织和骨骼肌的 LDH 同工酶谱进行了分析。结果表明斑海豹不同组织 LDH 同工酶的区带数目、相对活性和亚基含量均具组织特异性,并且肝脏和胰腺中不存在 LDH<sub>1</sub>。

**关键词** 斑海豹 聚丙烯酰胺凝胶电泳 LDH 同工酶

本世纪 50 年代以来,电泳方法就已广泛应用于动物组织同工酶分析研究,近 20 年来同工酶研究有了快速的发展。其中乳酸脱氢酶是迄今了解最清楚的一种糖代谢关键酶,有关哺乳动物组织 LDH 同工酶的研究见于候亚义等<sup>[1]</sup>用聚丙烯酰胺垂直平板电泳法对江豚 LDH 同工酶分析,冯文和等<sup>[3]</sup>用聚丙烯酰胺凝胶电泳对大熊猫尸体组织 LDH 同工酶的观察,范燕等<sup>[4]</sup>对大熊猫幼仔尸体组织 LDH 同工酶酶谱分析,冯文和等<sup>[5]</sup>对大熊猫和小熊猫生殖轴系 LDH 同工酶,以及小熊猫与大熊猫消化系统组织 LDH 同工酶的比较分析。然而对斑海豹 (*Phoca vitulina*) 组织 LDH 同工酶的研究未见报道,故本实验采用聚丙烯酰胺圆盘电泳对斑海豹的心肌等 6 种组织的 LDH 同工酶进行了初步研究,并分析了这些组织中 LDH 同工酶谱的特征,为斑海豹生化遗传学的研究提供了基本资料。

## 1 材料与方 法

**1.1 材 料** 斑海豹为渤海湾捕获的成年个体,雌性 1 只、雄性 1 只,体重在 25~30kg,均为健康个体,所取 6 种组织无病变。

**1.2 样品的保存和制备** 将刚死亡的尸体迅速解剖,取一定量的心肌、肝脏、脾脏、胰腺、肾组织和骨骼肌保存于 -20℃ 以下。制备样品前先将组织块解冻,用生理盐水将其冲洗干净,称取各种组织 0.5g 置于玻璃组织匀浆器中,加入

10 倍体积的 0.1mol/L (pH7.8) 的磷酸缓冲溶液,在冰浴下匀浆后,于 0~4℃ 下将组织匀浆液以 4000 转/分离心 10 分钟,取上清液点样。

**1.3 电 泳** 聚丙烯酰胺凝胶圆盘电泳按莽克强<sup>[6]</sup>的方法进行,凝胶浓度为 7.5%,点样每管为 20μl,加溴酚兰做前沿标记,采用 pH8.3 的 Tris-甘氨酸为电极缓冲液,电泳强度每管 2 毫安培 (mA),泳动 3.5 小时。

**1.4 染 色** 将电泳后凝胶条浸入染色液 [氧化型辅酶 I (NAD) 50mg、氧化硝基四氮唑蓝 (NBT) 30mg,吩嗪二甲酯硫酸盐 (PMS 2mg, 1.0mol/L 乳酸钠 (pH7.0) 10ml, 0.1mol/L 氯化钠 5ml, 0.05mol/L Tris-盐酸缓冲液 (pH7.1) 15ml 和蒸馏水 70ml] 中,于 37℃ 保温 45 分钟,即可显示出蓝紫色区带,以海鸥 DF-300 照相机和日本岛津 CS930 型光密度扫描仪进行拍照和酶谱扫描。LDH 同工酶 A 和 B 亚基的计算采用 Geraled<sup>[7]</sup>方法,即 A 亚基 = LDH<sub>5</sub> + 3/4LDH<sub>4</sub> + 1/2LDH<sub>3</sub> + 1/7LDH<sub>2</sub>, B 亚基 = LDH<sub>1</sub> + 3/4LDH<sub>2</sub> + 1/2LDH<sub>3</sub> + 1/4LDH<sub>4</sub>, 并计算每种组织的 A/B 值。LDH 同工酶各区带的相对活性均以光密度扫描的相对面积来表示。

## 2 结 果

每个样品在相同实验条件下重复 5 次,重

\* 天津师范大学生物系 天津 300074;

第一作者介绍:卢宝泉,男,34岁,高级畜牧师,硕士;

收稿日期:1997-09-19,修回日期:1998-03-20

复性良好,电泳谱带一致。实验结果为斑海豹心肌、脾脏、肾组织和骨骼肌 LDH 同工酶均具 5 条区带,分别为 LDH<sub>1</sub>、LDH<sub>2</sub>、LDH<sub>3</sub>、LDH<sub>4</sub> 和 LDH<sub>5</sub>,而肝脏和胰腺组织中不存在 LDH<sub>1</sub>,只有 LDH<sub>2</sub>、LDH<sub>3</sub>、LDH<sub>4</sub> 和 LDH<sub>5</sub> 4 条区带。有关斑海豹心肌等 6 种组织 LDH 同工酶区带的分布特点(见图 1、2 和表 1)。

表 1 斑海豹 6 种组织 LDH 同工酶相对活性及亚基含量(%)

组 织	LDH <sub>1</sub>	LDH <sub>2</sub>	LDH <sub>3</sub>	LDH <sub>4</sub>	LDH <sub>5</sub>	A 亚基	B 亚基	A/B
心 肌	30.9	33.7	16.6	11.5	7.3	32.65	67.35	0.48
肝 脏	0	3.0	12.3	11.4	73.2	88.65	11.35	7.85
脾 脏	3.6	19.7	31.9	28.2	16.6	58.6	41.4	1.42
胰 腺	0	2.7	33.1	26.6	37.7	74.87	25.23	2.97
肾组织	21.4	21.0	24.8	19.7	12.5	45.0	55.0	0.82
骨骼肌	1.3	16.2	28.9	28.6	24.8	64.85	35.15	1.84

从图表中可以看出,斑海豹心肌、肝脏、脾脏、胰腺、肾组织和骨骼肌的 LDH 同工酶区带分布均具有明显的组织特异性。如心肌 LDH 同工酶区带的酶相对活性顺序为 LDH<sub>2</sub> > LDH<sub>1</sub> > LDH<sub>3</sub> > LDH<sub>4</sub> > LDH<sub>5</sub>,肝脏为 LDH<sub>5</sub> > LDH<sub>3</sub> > LDH<sub>4</sub> > LDH<sub>2</sub>,脾脏为 LDH<sub>3</sub> > LDH<sub>4</sub> > LDH<sub>2</sub> > LDH<sub>5</sub> > LDH<sub>1</sub>,肾组织为 LDH<sub>3</sub> > LDH<sub>1</sub> > LDH<sub>2</sub> > LDH<sub>4</sub> > LDH<sub>5</sub>,胰腺为 LDH<sub>5</sub> > LDH<sub>3</sub>

> LDH<sub>4</sub> > LDH<sub>2</sub>,骨骼肌为 LDH<sub>3</sub> > LDH<sub>4</sub> > LDH<sub>5</sub> > LDH<sub>2</sub> > LDH<sub>1</sub>。A/V 亚基的比值大小顺序依次为肝脏 > 胰腺 > 骨骼肌 > 脾脏 > 肾组织 > 心肌。

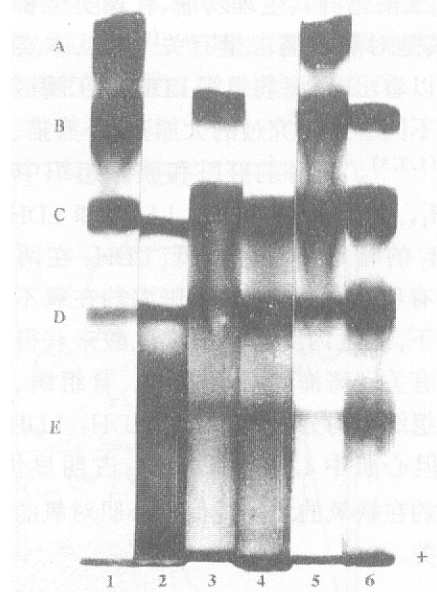


图 1 斑海豹组织 LDH 同工酶 PAGE 图谱

1. 心肌;2. 肝脏;3. 脾脏;4. 胰腺;5. 肾组织;6. 骨骼肌。  
A:LDH<sub>1</sub>; B:LDH<sub>2</sub>; C:LDH<sub>3</sub>; D:LDH<sub>4</sub>; E:LDH<sub>5</sub> (图中阿拉伯数字与英文字母所代表内容也适用于图 2)。

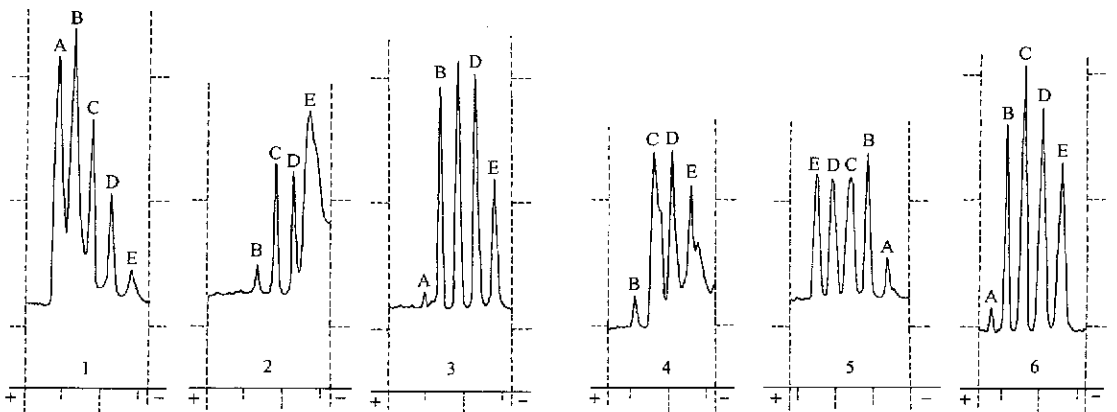


图 2 斑海豹组织 LDH 同工酶 PAGE 图谱(图中阿拉伯数字与英文字母所代表内容同图 1)。

### 3 讨论

LDH 同工酶在糖代谢过程中起着重要的作用,它催化乳酸和丙酮酸的相互转换,在大多

数动物组织中,它是由两条肽键即肌肉型(A)和 N 心型(B)按一定比例组合而成的 5 种四聚体:LDH<sub>1</sub> (B<sub>4</sub>)、LDH<sub>2</sub> (AB<sub>3</sub>)、LDH<sub>3</sub> (A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>)、LDH<sub>4</sub> (A<sub>3</sub>B) 和 LDH<sub>5</sub> (A<sub>4</sub>)。LDH 同工酶的两

种肽键分别由两个基因编码,经转录、翻译、修饰加工等过程,最后成为有生物活性的物质。在不同动物、不同组织和不同环境中,LDH同工酶的区带数目、相对活性和亚基比例都会发生不同的变化<sup>[8]</sup>。各组织所具有的特异性的LDH同工酶谱与其生理功能、代谢类型密切相关,尤其是对氧的需求量有关<sup>[9]</sup>。从本实验的结果可以看出,斑海豹组织LDH同工酶区带特点明显不同于已研究过的大熊猫、小熊猫、江豚等动物<sup>[1,3,5]</sup>。斑海豹肝脏和胰腺组织中不存在LDH<sub>1</sub>,只有LDH<sub>2</sub>、LDH<sub>3</sub>、LDH<sub>4</sub>和LDH<sub>5</sub>,而且LDH<sub>2</sub>的相对活性也较低,LDH<sub>5</sub>在两种组织中占有明显的优势,这与斑海豹在氧不足的水环境下,通过丙酮酸还原成乳酸来获得足够的能量有关。斑海豹心肌、脾脏、肾组织、骨骼肌4种组织中均分布有LDH<sub>1</sub>、LDH<sub>3</sub>、LDH<sub>4</sub>和LDH<sub>5</sub>,但心肌中LDH<sub>1</sub>和LDH<sub>2</sub>占明显优势,与斑海豹在缺氧的水环境促进心肌对氧的有效利用有关。

## 参 考 文 献

- 1 侯亚义,周开亚.江豚几种组织的LDH、MDH和POD同工酶的电泳观察.南京师大学报(自然科学版),1993(2):63~67
- 2 陆佩洪,厦婷婷.江豚组织的LDH、MDH和POD同工酶的电泳分析.兽类学报,1983,3(2):189~192
- 3 冯文和,罗昌蓉,何光昕.大熊猫尸体组织LDH同工酶电泳观察.兽类学报,1985,5(3):167~172
- 4 范燕,张健.大熊猫幼仔尸体组织LDH同工酶谱分析.野生动物,1990(1):27~29
- 5 冯文和,张安居.大熊猫繁殖与疾病研究.成都:四川科学技术出版社,1991.223~237
- 6 菲克强.聚丙烯酰胺凝胶电泳.北京:科学出版社,1975.26~43
- 7 Geraled, P. C. LDH isozymes. *Standard Methods of Clinical Chemistry*, 1972, 7:49~61
- 8 Markert, C. L., J. B. Shakler, G. S. Whitt. Evolution of a gene: Multiple genes for LDH isozymes provide a model of the evolution of genes structure, function and regulation. *Science*, 1975, 189:102~114
- 9 薛国雄.乳酸脱氢酶的同功酶.生物科学动态,1978,3:10~16