

中华鳖同工酶的组织特异性研究

赵金良 蔡完其 李思发

(农业部水产增殖生态生理重点开放实验室, 上海水产大学, 200090)

摘 要 本文采用聚丙烯酰胺凝胶水平电泳和激光扫描法,研究了中华鳖 LDH、MDH、EST、SOD、IDH、 α -GPDH、G-6-PHD 同工酶在肌肉、肝脏、肾、心、脾、精巢、卵巢等组织器官中的表达,并对其遗传位点进行了分析。在研究的7种同工酶中,除 MDH 在各组织中表型一致外,其他同工酶均有明显的组织特异性。同工酶在不同组织中的表达差异,是受不同基因位点控制的结果,与各组织完成特有生化代谢活动密切相关。

关键词 中华鳖,同工酶,组织特异性

中图分类号 S917

中华鳖(*Trionyx sisensis*)俗称甲鱼,自然分布于我国大部分地区,是一种经济价值较高的水产经济动物。近年来,由于受鳖市场高利润的刺激,大量捕捉亲鳖,天然鳖群的数量大大减少。同时,对不同地区来源的不同种质缺乏认识和管理,造成种质混乱。随着中华鳖工厂化养殖的蓬勃发展,养殖技术日渐成熟,集约化养殖对其种质要求也就越高。但目前对其遗传特性仍了解甚少,这对中华鳖的资源保护和合理利用构成了潜在的威胁。本文应用同工酶电泳分析对中华鳖同工酶在不同组织器官中的表达进行了研究。以期了解中华鳖的生化遗传特征和遗传结构,为中华鳖的选育及遗传保护提供可靠依据。

1 材料和方法

1.1 试验材料与样品制备

中华鳖取自上海市嘉定区三友鳖业有限公司,20只。背甲全长10.1~13.7cm,体重270~310g。活体解剖,取肌肉、肝脏、肾、心、脾、精巢、卵巢等组织,于低温冰箱中保存。分析时称取0.3g样品,按1:3(W/V)加0.3%NAD溶液,匀浆后,12000rpm,4℃离心,取上清液,置于4℃冰箱中备用。

1.2 电泳及扫描

按李思发等[1990]方法,用浓度为5%的聚丙烯酰胺在LKB水平电泳仪上进行电泳。电泳图谱用LKB激光扫描仪扫描。相对活性强度为某一谱带的活性强度占所有谱带的总活性强度

值的百分比。

2 结果

对中华鳖的肌肉、肝脏、肾、心、脾、精巢、卵巢组织中 LDH、MDH、EST、SOD、IDH、 α -GPDH、G-6-PDH 进行电泳和扫描分析,各同工酶的表达情况如下。

2.1 乳酸脱氢酶(LDH)

中华鳖的 LDH 由2个座位(Ldh-A、Ldh-B)编码,为四聚体。在肌肉、肝脏、肾、心、脾、精巢、卵巢等组织中,均由 Ldh-A、Ldh-B 位点共同编码而表现为5条谱带:LDH₅、LDH₄、LDH₃、LDH₂、LDH₁(图1)。各谱带在不同组织中迁移率相近,但活性强度有所差异(表1)。其中肌肉、精巢中 LDH₅酶带相对活性最强;而心、脾、卵巢中 LDH₁、LDH₃较强。

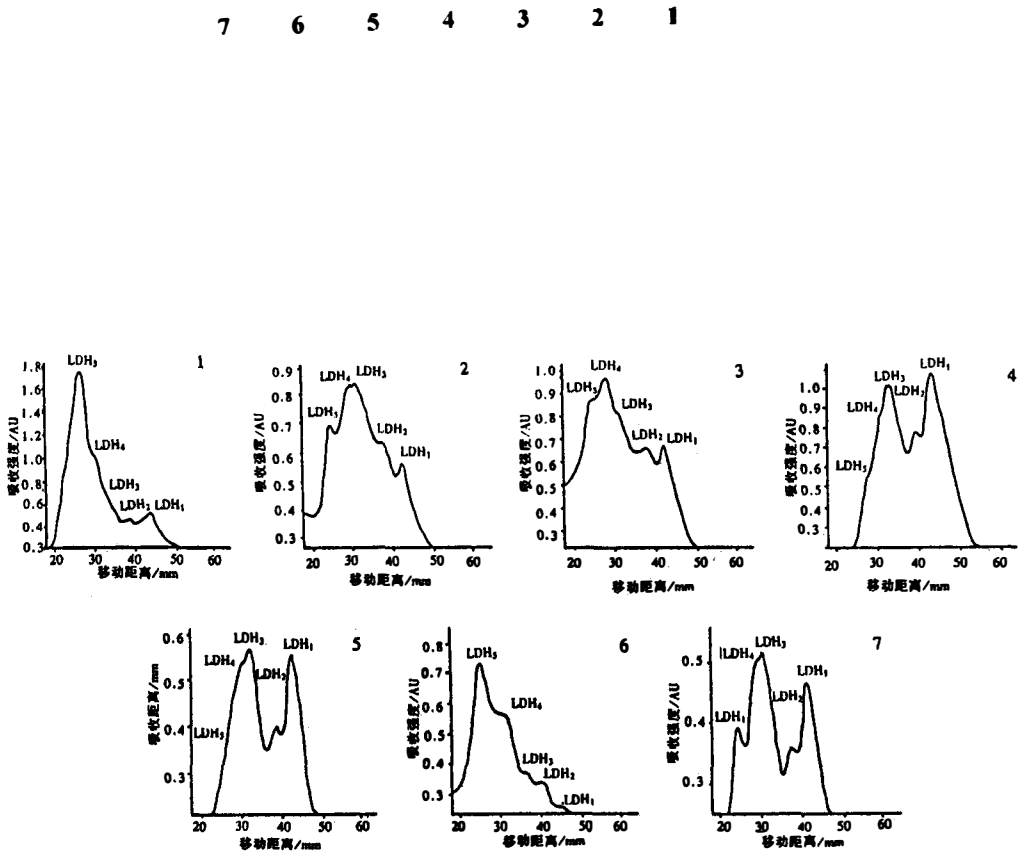


图1 中华鳖肌肉、肝脏、肾、心、脾、精巢、卵巢中 LDH 同工酶谱及扫描图

Fig.1 The zymograms and densitometer scans of LDH isozyme in muscle, liver, kidney, heart, spleen, spermary and ovary of *T. sinensis*

1. 肌肉;2. 肝脏;3. 肾;4. 心;5. 脾;6. 精巢;7. 卵巢。

表1 中华鳖肌肉、肝脏、肾、心、脾、精巢、卵巢中 LDH 同工酶的相对活性强度比(%)

Tab. 1 The relative activities of LDH isozyme in muscle, liver, kidney, heart, spleen, spermary and ovary of *T. sinensis* (%)

组织器官	LDH ₅	LDH ₄	LDH ₃	LDH ₂	LDH ₁
肌肉	41.3	21.3	16.2	10.4	10.8
肝脏	12.1	24.1	33.1	15.5	15.2
肾	22.7	24.4	21.0	15.7	16.2
心	11.1	17.1	23.6	19.0	29.2
脾	15.8	20.4	24.4	17.2	22.2
精巢	31.1	21.8	21.2	14.1	11.8
卵巢	17.3	24.8	25.4	12.7	19.8

2.2 苹果酸脱氢酶(MDH)

中华鳖的 MDH 由1个位点编码,为二聚体。在肌肉、肝脏、肾、心、脾、精巢、卵巢中均表现为1条迁移率相同的谱带(图2)。未见其在各组织中有明显差异。

2.3 酯酶(EST)

酯酶在中华鳖各组织中表达差异较大(图3),该酶为单体酶。在肌肉表现为5条谱带,分别由 Est-1、Est-2、Est-3、Est-4、Est-5位点编码;在肝脏中表现为3条谱带,分别由 Est-2、Est-3、Est-4位点编码;在肾中表现为2条谱带,由 Est-3、Est-4位点编码;在其他组织中表现不清晰。

2.4 超氧化物歧化酶(SOD)

超氧化物歧化酶在中华鳖肌肉、肝脏、肾中表现不同(图4),在其他组织中表现不清晰。该酶为二聚体。在肌肉中表现为5条谱带,分别由 Sod-1、Sod-2、Sod-4、Sod-5、Sod-6位点编码,其中 SOD₁带迁移率最快,活性最强;在肝脏中、肾中均表现为4条谱带,分别由 Sod-2、Sod-3、Sod-5、Sod-6位点编码,以 SOD₆带活性最强。

2.5 异柠檬酸脱氢酶(IDH)

异柠檬酸脱氢酶在中华鳖各种组织中均有表达,为二聚体。在肌肉、心中表现为1条谱带,由 Idh-2位点编码;在肝脏、肾、脾、精巢、卵巢中均表现为2条谱带,分别由 Idh-1、Idh-2位点编码(图5)。

2.6 甘油-3-磷酸脱氢酶(α -GPDH)

甘油-3-磷酸脱氢酶在中华鳖肌肉中表现为1条谱带,活性较弱,由1个位点编码。而在其他组织中未见表达。

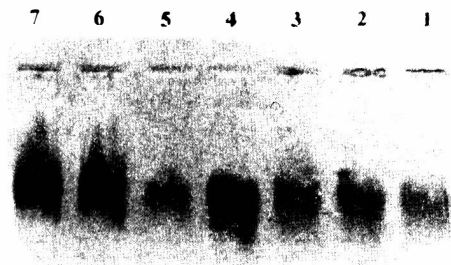


图2 中华鳖肌肉、肝脏、肾、心、脾、精巢、卵巢中 MDH 同工酶谱
Fig. 2 The zymogram of MDH isozyme in muscle, liver, kidney, heart, spleen, spermary and ovary of *T. sinensis*
1. 肌肉; 2. 肝脏; 3. 肾; 4. 心; 5. 脾; 6. 精巢; 7. 卵巢。

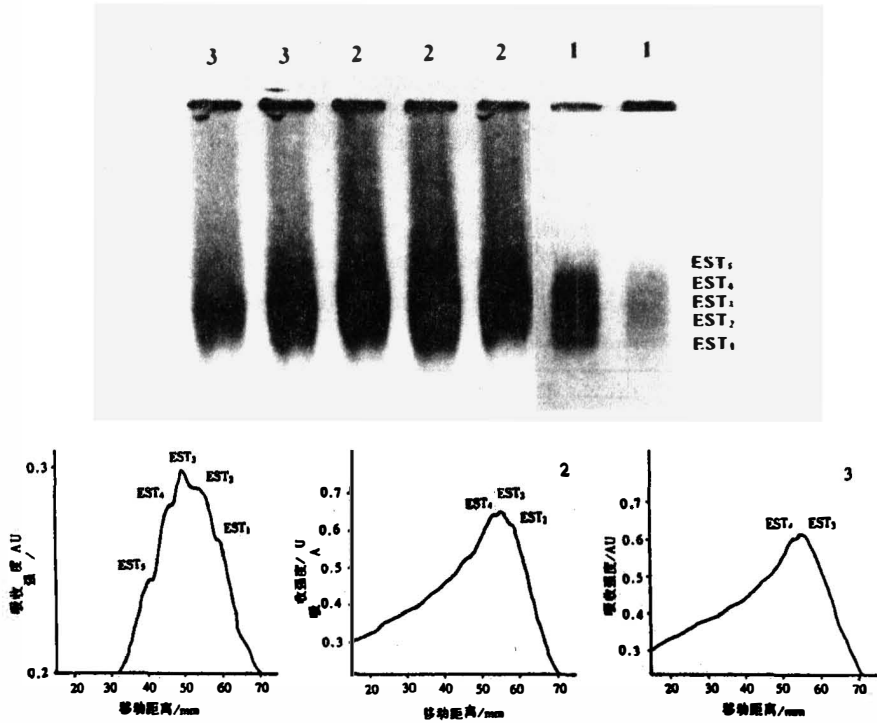


图3 中华鳖肌肉、肝脏、肾中EST同工酶谱及扫描图

Fig. 3 The zymograms and densitometer scans of EST isozyme in muscle, liver, kidney of *T. sinensis* 1. 肌肉; 2. 肝脏; 3. 肾。

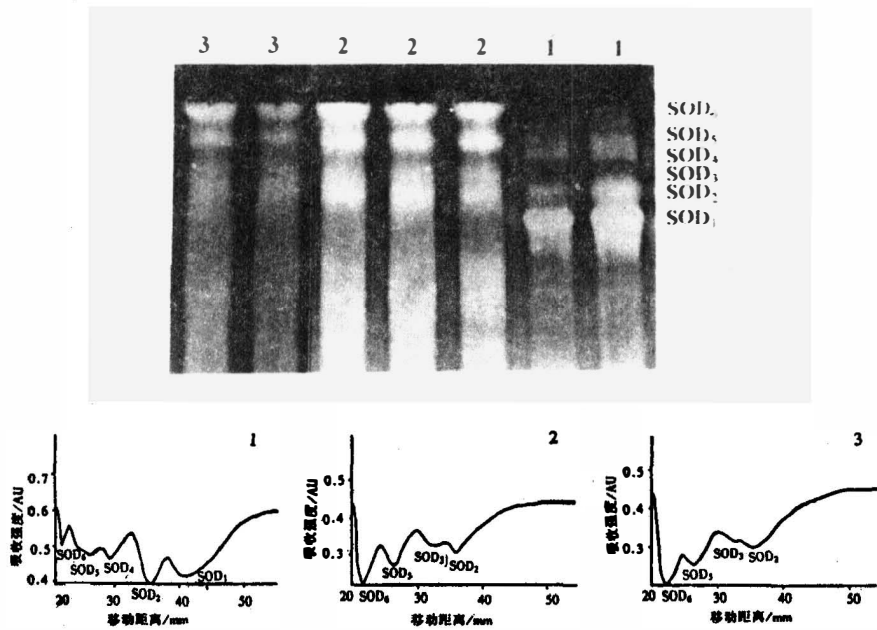


图4 中华鳖肌肉、肝脏、肾中SOD同工酶谱及扫描图

Fig. 4 The zymograms and densitometer scans of SOD isozyme in muscle, liver, kidney of *T. sinensis* 1. 肌肉; 2. 肝脏; 3. 肾。

2.7 葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(G-6-PDH)

葡萄糖-6-磷酸脱氢酶在中华鳖在肝脏中表现为1条谱带,由1个位点编码。在其他组织中未见表达。

3 分析与讨论

从同工酶的酶谱表型来看,除 MDH 在不同组织中表型较为一致外,其他同工酶在不同组织中表达各不相同。如酯酶在肌肉表现有5条谱带,在肝脏中有3条谱带,在肾中有2条谱带。SOD 在肌肉中表现有5条带,在肝脏、肾中有4条谱带。IDH 肌组织(肌肉、心)中仅表现有1条谱带,在其他内脏组织中表现2条谱带。 α -GPDH 仅在肌肉中表达,G-6-PDH 仅在肝脏中表达,而其他组织中未见表达。对其基因位点的遗传分析表明,同工酶一般由多个基因位点控制,表达差异反映了其在不同组织中受不同的遗传基因控制的结果。在不同组织中各位点以不同的表达方式适应各组织器官的不同生理生化需要。

从同工酶的各种表型的相对活性强度来看,有些同工酶的同谱带的相对活性强度在不同组织间差异显著。如 LDH 在中华鳖各组织中虽都表现为5条谱带,迁移率相近,但相对活性强度差异十分显著(表1)。这与其在不同组织里所起的代谢功能上的作用是密切相关的[李思发等 1990,李思发和蔡完其 1992,李永通等 1992,姜建国等 1997]。不同类型同工酶的催化功能各异,在不同组织中催化特异的生化产物,完成特定的生化代谢活动。

同工酶活性强弱是基因在表达时受一系列遗传调控所致,是保证生物正常代谢活动的另一不可缺少的必需条件。此外,酶活性强度还可能会因生物体健康状况变化、生理功能失调而产生一定的变化[Cai 1991]。

在硬骨鱼类等脊椎动物的组织中,MDH 一般可分为细胞质型(s-Mdh)和线粒体型(m-Mdh)两种类型[李思发等 1990,李思发和蔡完其 1992]。而中华鳖在各组织中 MDH 仅有 s-Mdh 表达,且均表现为1条谱带,可能与中华鳖的生化代谢较为特殊有关,尚待研究。

参 考 文 献

- 李永通,响应海,扬业勤. 1992. 中国大鲵及鳖不同组织 LDH 同工酶的比较研究. 动物学杂志,27(1):28~31.
- 李思发,吴力钊,王 强等. 1990. 长江、珠江、黑龙江鲢、鳙、草鱼种质资源研究. 上海:上海科学技术出版社, 51~101.
- 李思发,蔡完其. 1992. 团头鲂乳酸脱氢酶组织特异性的激光扫描分析. 上海水产大学学报,1:38~47.
- 姜建国,熊全沐,姚如华等. 1997. 青鱼不同组织同工酶的表达模式. 水生生物学报,21(4):54~58.
- Cai Wanqi. 1991. Pathology of red spot disease of soft-shelled turtles. Asian Fisheries Science,4:155~163.

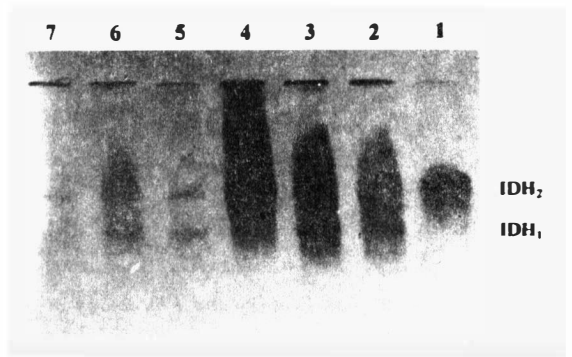


图5 中华鳖肌肉、肝脏、肾、心、脾、精巢、卵巢中 IDH 同工酶谱
Fig. 5 The zymograms of IDH isozyme in muscle, liver, kidney, heart, spleen, spermary and ovary of *T. sinensis*
1. 肌肉;2. 肝脏;3. 肾;4. 心;5. 脾;6. 精巢;7. 卵巢。

A STUDY ON TISSUE-SPECIFIC PATTERNS OF ISOZYMES OF *TRIONYX SISSENSIS*

ZHAO Jin-Liang, CAI Wan-Qi, LI Si-Fa

(Key Laboratory of Ecology and Physiology in Aquaculture of Ministry of Agriculture, SFU, 200090)

ABSTRACT The isozyme patterns of LDH, MDH, EST, SOD, IDH, α -GPDH and G-6-PDH in muscle, liver, kidney, heart, spleen, spermary and ovary of *Trionyx sisensis* were studied by using LKB horizontal acrylamide gel electrophoresis and ultrosaning. The results indicated that six isozymes (LDH, EST, SOD, IDH, G-6-PDH, α -GPDH) showed significant tissue-specific patterns in different tissues except that of MDH. The different expressions of isozyme in different tissues, which are controlled by different gene loci, are closely related to the tissues-specific biochemical metabolism.

KEYWORDS *Trionyx sisensis*, isozyme, tissue-specific pattern