

应用实例

薄层扫描法测定冬眠过程中刺猬活性组织酶的周期变化

冯金城

(天津师范大学 天津 300074)

孙金生

(天津水产研究所 天津 300221)

1 前言

为了跟踪观察刺猬在冬眠过程中体内乳酸脱氢酶的周期性变化,利用薄层扫描仪测定了其相关的组织同工酶的差异。实践证明,此法简便,快速,重复性及准确性较好,为研究刺猬的冬眠过程的变化提供了较好的依据。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

岛津 CS-930 双波长薄层扫描仪(附带凝胶色谱扫描台架)。聚丙烯酰胺(化学纯),磷酸(分析纯)等。

2.2 方法

样品 选取雄性成熟刺猬,将刺猬轻度麻醉,迅速摘取褐色脂肪及其它组织。用生理盐水洗净后,称取 0.5g 活性组织,加入 5mL 磷酸缓冲液(0.01mol/L, pH 7.0),离心分离 30min。取上层清液,采用

7.5%的聚丙烯酰胺凝胶盘状电泳进行分离。电极缓冲液为 Tris-Gly 体系(0.05mol/L, pH 7.9),凝胶管规格为 6mm×75mm,每管加样量为 100μL。用微量点样器点样,电流为 2mA/管,在 4℃下电泳 4~5 小时。乳酸脱氢酶(LDH)同工酶的显色根据吴鹤龄^[1]的方法进行,显色后酶带呈红色。

测定 首先将制好的胶条依次放入扫描台架上,一次可测 10 个样品。LDH 的测定波长为 525nm,透射光测试,线性扫描,狭缝 0.7×6mm,事先编好程序自动扫描。

3 结果与讨论

用扫描法测定刺猬褐色脂肪(BAT)的冬眠期前后的变化,方法简便。一个样品在条件选择适当后,输入程序器中,仅用 1~2min 便可测完。每次测定 20~30 个试样,半小时左右即可。除此之外,该法还具有如下特点:

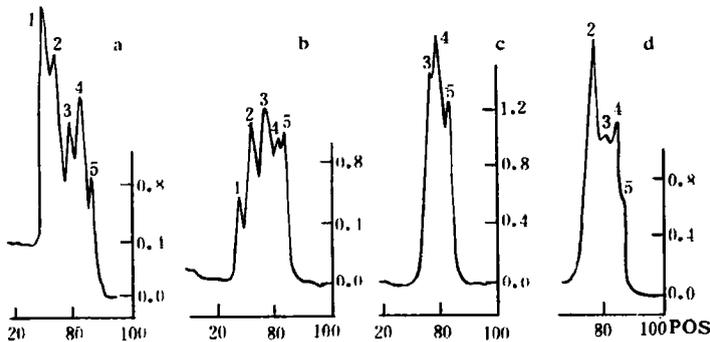


图1 冬眠前后 BAT 的 LDH 酶谱的变化

a. 活动期, b. 冬眠前, c. 冬眠期, d. 冬眠后。峰 1~5 分别代表 LDH₁~LDH₅。

1) 准确性好:我们仅对活动期及冬眠期前后刺猬的 BAT 所显示的 5 种 LDH 测定发现,在冬眠前、

冬眠期及冬眠后有明显不同。其中在冬眠前及活动期 LDH₁~LDH₅ 5 种酶的吸收峰均存在。但进入冬眠时,LDH₁,LDH₂ 消失,其它存在的酶的活性也降

低。冬眠后除 LDH₁ 未恢复外,其它几个峰均已恢复到冬眠前的状态^[2](图 1)。冬眠前后胃的 LDH 酶谱的变化(图 2)有类似的情况。

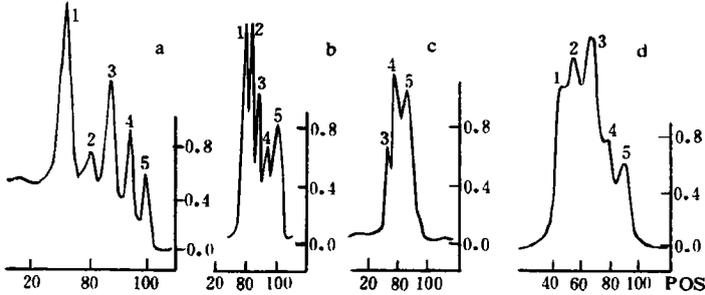


图 2 冬眠前后胃的 LDH 酶谱的变化

a. 活动期, b. 冬眠前, c. 冬眠期, d. 冬眠后。

为了全面测定,在采样中分别从刺猬的 12 个不同的组织中进行收集。经过分别测定,发现变化规律是十分一致的(表 1)。

表 1 刺猬冬眠前后 12 种 LDH 同工酶的分布

组织名称	活动期	冬眠前	冬眠期	冬眠后
BAT	1~5 ^②	1~5	3~5	2~5
WAT ^①	1~4	2,3	2,3	1~4
胃	1~5	1~5	3~5	1~5
肝	4	4	4	1~4
骨骼肌	1~5	1~5	4,5	2~5
肾	2~5	2~5	3~5	2~5
膈肌	1~5	2~4	2~4	2~5
脾	1~5	1~5	4,5	3~5
十二指肠	1~5	2~4	2~4	2~4
肺	1~5	1~5	3~5	2~5
血液	1~5	1~4	3,4	3,4
心	1~5	1~4	3,4	3,4

①WAT 为白脂肪。

②1,2,3,4,5 分别代表 LDH₁,LDH₂,...LDH₅。

2)重现性好:由于凝胶条的稳定性高,因此,可重复测试,相对误差较低。

3)用薄层扫描法测试刺猬冬眠过程的 BAT 及其它组织同工酶谱的带数增减及酶活性强弱与冬眠的关系具有较强的说服力。

关键词 薄层色谱,刺猬活性组织,乳酸脱氢酶,乳酸脱氢酶同工酶,周期变化

参 考 文 献

- 1 吴鹤龄等.遗传,1982;4(2):22
- 2 孙金生.刺猬褐色脂肪和非颤抖性产热的季节性变化及其对冬眠过程的影响(硕士学位论文),天津师范大学,1989.5

Determination of Periodic Change in the Hedgehog Active Tissue Ferment by Thin-Layer Chromatography (TLC)

Feng Jincheng

(Department of Chemistry Tianjin Normal University, Tianjin, 300074)

Sun Jinsheng

(Tianjin Institute of Aquatic Product, Tianjin, 300221)

In this paper, the determination of periodic change in the hedgehog active tissue ferment by TLC is described. The results showed that the total LDH activity and the number of LDH isozyme patterns decreased in the BAT and other tissues of the winter hypothermic hedgehog, and increased after hibernation.

Key words thin-layer chromatography, hedgehog active tissue, LDH(lactic acid dehydrogenase),LDH isozyme, periodic variation