

绵羊组织器官 LDH 同工酶特异性研究

罗 军 唐文花

(西北农业大学动物科学系, 陕西 712100)

摘 要 本研究利用不连续聚丙烯酰胺凝胶电泳法(PAGE)对绵羊的8种组织器官(心脏、肝、肺、脾、肾、骨骼肌、晶状体、血清)LDH 同工酶的分布及相对活性进行了分析测定, 比较 LDH 同工酶的酶谱特征。结果表明, 绵羊的 LDH 同工酶分布特征不同于其它动物, 其相对活性有显著差异。骨骼肌中 LDH₅ 活性比 LDH₁ 强, M 亚基比例大于 H 亚基; 肝脏和心脏中 LDH₁ 的活性最强。

关键词 绵羊, 组织器官, 乳酸脱氢酶同工酶

1 材料与方法

1.1 材料

改良甘肃高山细毛羊7只(3♂4♀), 均为健康成年羊。

1.2 采样及样品制备

1.2.1 血清: 颈静脉采血3~5ml, 凝固后取自然析出的血清置于-20℃冰箱内备测。

1.2.2 其它组织: 宰杀后立即取样, 并速送实验室-20℃冷冻保存。制样时剔除脂肪结缔组织, 洗净血污, 切碎, 取1g左右, 加入2~3ml 0.9%生理盐水, 用玻璃匀浆器进行冰浴研磨, 研磨液以3500r/min 离心10min, 取上清液, 冷冻保存备测。

1.3 LDH 同工酶分离方法

聚丙烯酰胺凝胶电泳法。凝胶浓度7.5%, 电极缓冲液为0.025mol/L 的 Tris-甘氨酸(pH=8.3)溶液, 150V、0~4℃下电泳4~5h。固定、染色和脱色参照文献的方法^[1]。

1.4 扫描定量

用岛津 CS-930型双波长薄层扫描仪测定, 吸收峰面积百分比为 LDH 同工酶相对活力, 并计算 H、M 亚基的相对含量。

2 结果与分析

2.1 绵羊 LDH 同工酶酶谱特征 不同组织器官 LDH 同工酶酶谱如图所示。肺脏有5条谱带, 脾脏和骨骼肌有4条谱带, 其余组织器官有三条谱带, 从阳极到阴极依次为 LDH₁, LDH₂, LDH₃, 且 LDH₁ 谱带浓度最大, 示其活性最强。骨骼肌中 LDH₁, LDH₃, LDH₅ 谱带明显, 说明 M 亚基含量较高, 心脏与肝脏组织的酶谱特征相似。绵羊各组织 LDH 同工酶酶谱不同于其它草食动物如华南兔^[2], 表现出明显的特异性。

2.2 绵羊 LDH 同工酶的相对活性 根据酶谱扫描曲线吸收峰面积, 计算各组织器官不同类型 LDH 同工酶的相对活性及两种亚基的比例, 列于表。

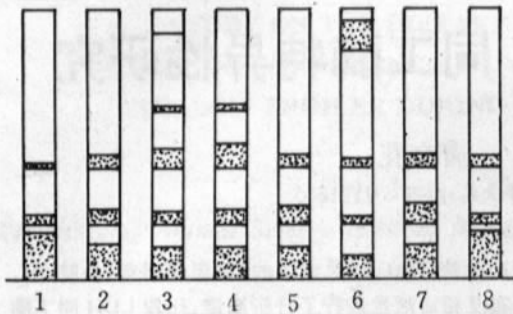


图 绵羊部分组织器官 LDH 同工酶电泳

Fig. Electropherogram of different tissue of sheep LDH isoenzyme

1. 心; 2. 肝; 3. 肺; 4. 脾; 5. 肾;
6. 骨骼肌; 7. 晶状体; 8. 血清

1. Heart; 2. Liver; 3. Lung; 4. Spleen;

5. Kidney; 6. Muscle; 7. Crystalline lens;

8. Serum

表 绵羊各组织器官的 LDH 同工酶百分含量及 H、M 亚基比例(%)

Table LDH isoenzyme and H, M subunit percentage in different tissue of sheep

组织 Tissue	LDH ₁	LDH ₂	LDH ₃	LDH ₄	LDH ₅	H(%)	M(%)
心 Heart	80.69	14.47	4.84			94.05	5.59
肝 Liver	60.75	22.01	17.24			85.88	14.12
肺 Lung	53.82	17.61	26.60	1.89	0.08	80.80	19.20
脾 Spleen	43.43	19.79	32.68	3.79		75.87	24.13
肾 Kidney	54.33	24.95	20.72			84.30	16.60
骨骼肌 Muscle	35.92	4.14	11.28		48.65	44.67	55.33
晶状体 Lens	56.42	28.81	14.78			85.41	14.59
血清 Serum	78.29	7.59	14.12			91.04	8.96

可以看出,除骨骼肌外的其它组织器官中 LDH₁的相对活性最强, H 亚基比例大于 M 亚基。

3 讨论

3.1 心脏高 LDH₁活性与骨骼肌功能的协调 绵羊心脏 LDH₁含量高达80.69%,是绵羊在适应性进化过程中形成的,与心脏特有的生理机能和 H 亚基的功能相关。研究表明,在中度运动时心脏能量的60%来自于乳酸氧化^[3],但是心脏以有氧代谢为主,大量利用乳酸就必须通过 H 亚基催化乳酸转变为丙酮酸的反应而实现,使心脏的功能和骨骼肌的运动相互协调统一。剧烈运动时,肌肉无氧代谢作用增强, M 亚基催化丙酮酸生成大量乳酸,以提供肌肉急需的能量。这些乳酸随血液运至心脏, H 亚基在 O₂参与下将一部分乳酸又氧化为丙酮酸进入三羧循环,产生大量能量,既满足了运动时心脏供血耗能,同时也有效地利用乳酸,避免乳酸堆积造成酸中毒。绵羊被毛密集,生活环境寒冷干旱,海拔高,心脏负担重、肌肉运动量大,耗能多,更需要通过这种协调作用,维持正常的生命活动。

3.2 肝脏的糖异生作用导致 LDH₁ 含量高 绵羊肝脏中以 LDH₁ 为主,而无 LDH₄,LDH₅ 的原因可以从野生反刍动物的消化特点分析。反刍动物能消化纤维素,瘤胃中经微生物发酵产生低级脂肪酸,肝脏通过糖异生作用将有机酸转变成糖是一需氧反应,需要肝脏中有大量与有氧代谢有关的 H 亚基存在。另外,骨骼肌无氧代谢产生的大量乳酸通过血液一部分进入心脏,剩余的很大部分则进入肝脏,合成肝糖元和葡萄糖,导致绵羊肝脏 LDH₁ 含量较高。这里所研究的改良甘肃高山细毛羊,父本为新疆细毛羊和高加索细毛羊,母本为蒙古羊、藏羊及部分蒙藏混血羊,育成品种多放牧饲养,经常处于奔跑状态,肌肉产生的大量乳酸由肝脏处理,从而形成了 H 亚基高达90%以上的遗传型。后来又导入澳血进行杂交改良,需要较高饲养管理条件,运动量减少,肝中 H 亚基含量也趋于父母本之间。

3.3 骨骼肌 LDH 酶谱的特异性 骨骼肌剧烈运动时,会进行无氧代谢产生大量乳酸,需要大量 M 亚基参与催化这一过程,因此 M 亚基比例大于 H 亚基^[1],但是为何只有 LDH₅ 而没有 LDH₄,且 LDH₁ 活性较高,有待进一步研究。

参 考 文 献

- [1] 马建岗,路兴中. 中国部分乌鸡品种血清酶蛋白多态性研究. 西北农业学报,1992,1(1):57~60.
- [2] 周虞灿. 华南兔组织 LDH 同工酶的研究. 兽类学报,1988,(4):271~273.
- [3] 陈惠黎等. 分子酶学. 人民卫生出版社,1983,413.
- [4] 张学舜等. 牦牛主要组织器官 LDH 的同工酶谱. 中国牦牛,1989,(2):17.

STUDY ON LDH ISOENZYME PECULIARITY IN TISSUES OF SHEEP

Lou Jun, Tang Wenhua

(Department of Animal Science, North-western Agricultural University, Shanxi 712100)

Abstract

The LDH isoenzyme distribution and its relative activity in heart, liver, lung, spleen, skeletal muscle, crystalline lens and serum of sheep were analysed using Polyacrylamide Gel Electrophoresis and electropherogram scanning techniques to compare the characteristics of electropherogram of LDH isoenzymes in different tissues of sheep. The results showed that the LDH isoenzyme distribution was different from that of other animals, and its relative activity demonstrated a significant difference; LDH₅ activity in skeletal muscle was much higher than that of LDH₁ with higher percentage of M subunit than that of H subunit. The LDH₁ activity in heart and liver was the strongest.

Key words Sheep, Tissues, LDH isoenzyme