

初生北京鸭 4 种组织 LDH 同工酶的分析

吴鹤龄 李士鹏

(北京大学生物系, 北京 100080)

摘要 本文用薄层聚丙烯酰胺凝胶等电聚焦电泳对初生北京鸭的 4 种组织进行同工酶分析, 结果表明初生北京鸭肝脏具有 11 条区带, 胸肌具有 9 条区带, 肾脏具有 10 条区带, 心脏具有 9 条区带。从它们的 A 亚基和 B 亚基的相对百分量的比值中可看出心脏和肾脏中的 B 亚基含量比肝脏中的多, 相反, 肝脏的 A 亚基含量比心脏和肾脏含量多。胸肌的 A 亚基和 B 亚基含量则是相近似的。

关键词 LDH 基因座, LDH 同工酶, 等电点聚焦电泳, 初生鸭, 表达方式

LDH 同工酶是基因表达的产物, 而且在不同组织具有典型的特异性变化。所以它是研究高等脊椎动物基因表达调控的良好模型。有关 LDH 同工酶在哺乳类和鱼类方面做的比较多, 在鸟类这方面工作则比较少些^[1-5]。在解决了北京鸭 LDH 同工酶的薄层等电聚焦电泳区带的分离与鉴定这两个课题的基础上^[1-3], 本实验用等电点聚焦电泳对初生北京鸭的 4 种组织进行了 LDH 同工酶分析。

1 材料与方法

1.1 **实验动物** 初生北京鸭取自北京西苑鸭场, 取其肝脏、胸肌、心脏和肾脏进行同工酶分析。

1.2 **样品制备方法** 按参考文献[1]中的方法进行。

1.3 **薄层聚丙烯酰胺凝胶等电聚焦电泳** 按参考文献[1]中的方法进行。

1.4 **凝胶酶谱的扫描及计算** 用微量光密度计算薄层凝胶酶谱的 LDH 同工酶各区带扫描图谱的 OD 值(图 1)。 λ 为 580nm, 量程依各区带的光吸收量不同分别选用 10D 和 20D。扫描曲线用硫酸纸描记后, 剪下相应的峰面积称量。最后计算求得 5 种 LDH 同工酶的相对百分量。LDH₁ 同工酶 5 条亚带的相对百分含量和 A 与 B 两种亚基的相对百分含量及其相对比值。

2 结果与讨论

对初生北京鸭 4 种组织的 LDH 同工酶进行了分析。在图 1、图 2 和图 3 中表明初生鸭的 4 种不同组织具有各自特异的 LDH 座位表达方式。

初生鸭的肝脏具有 11 条区带, LDH₁ 为 5 条, LDH₂ 为 2 条, LDH₃ 为 2 条, LDH₄ 和

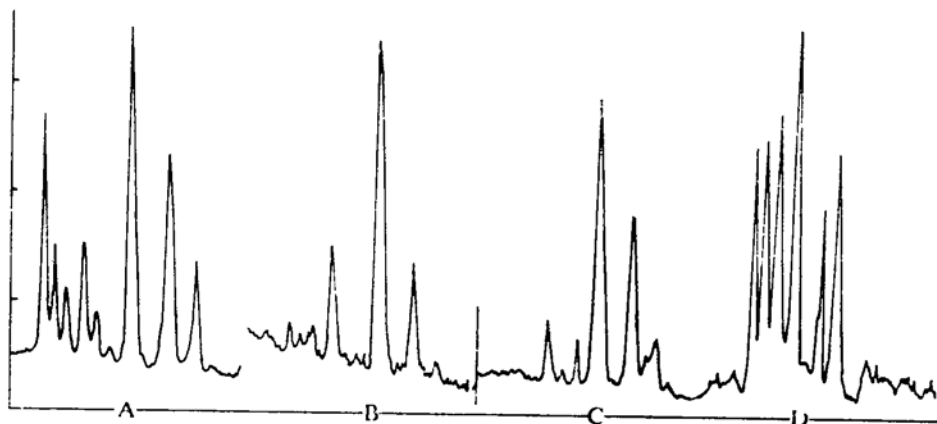


图1 初生北京鸭的肝、肾、心及胸肌的 LDH 同工酶谱的 OD 值扫描曲线

Fig. 1 The OD value of the scanning curve of the LDH isoenzyme patterns on the thin-layer isoelectric focusing on polyacrylamide gel

• A——肝 Liver; B——肾 Kidney; C——心 Heart; D——胸肌 Breast muscle

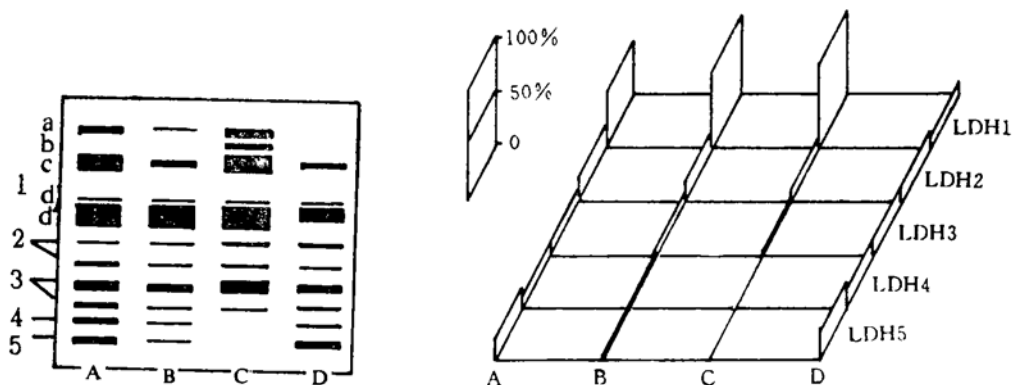


图2 初生北京鸭肝脏、肾脏、心肌和胸肌4种组织 LDH 同工酶薄层等电聚焦电泳酶谱。

Fig.2 The LDH isoenzyme patterns on the thin-layer isoelectric focusing in polyacrylamide gel of the new hatched duck tissues; Liver, Kidney, heart and Breast muscle.

• A——肝 Liver; B——肾 Kidney; C——心 Heart; D——胸肌 Breast muscle

图3 初生北京鸭肝脏、肾脏、心脏、胸肌4种组织 LDH 同工酶相对百分含量。

Fig. 3 The relative value(%) of five LDH isoenzymes of new hatched duck Liver, Kidney, Heart and Breast muscle.

• A——肝 Liver; B——肾 Kidney; C——心 Heart; D——胸肌 Breast muscle

LDH₅ 各为 1 条。5 种 LDH 同工酶的相对百分量以 LDH₁ 含量较高, LDH₂ 和 LDH₅ 含量次之, LDH₃ 和 LDH₄ 含量最低。这表明肝脏的 LDH 同工酶谱在初生北京鸭是典型的 B 型, 随着发育达到成鸭时, 肝脏的 LDH₅ 同工酶含量最高, 同工酶谱转变成典型的 A 型^[3]。初生鸭的胸肌具有 9 条区带, LDH₁ 为 3 条, 缺失 a 和 b 带, LDH₂ 为 2 条, LDH₃ 为 2 条, LDH₄ 为 1 条, LDH₅ 为 1 条。5 种 LDH 同工酶的相对百分含量是比较近似的, 因此, 它的 LDH 同工酶谱是典型的 AB 型。心脏有 9 条区带, LDH₁ 为 5 条, LDH₂ 为 2 条, LDH₃ 为 2 条, 缺失 LDH₄ 和 LDH₅ 条带。肾脏具有 10 条区带, LDH₁ 为 4 条, LDH₂ 为 2 条, LDH₃ 为 2 条, LDH₄ 和 LDH₅ 各具有 1 条。5 种 LDH 同工酶的相对百分含量以 LDH₁ 含量较高, LDH₂ 和 LDH₃ 含量次之, LDH₄ 和 LDH₅ 含量最低。这表明心脏和肾脏的 LDH 同工酶谱是典型的 B 型。以上结果明显地指出 LDH 同工酶座位表达的组织特异性主要表现在不同的 LDH 同工酶区带分布的数量及其含量上, 极端的情况下某些区带消失。

我们也可以从表 1 的 LDH 同工酶 A 和 B 两种亚基的相对百分量的比值中可看出 A 亚基和 B 亚基在不同的组织中的含量具有差异性。心脏和肾脏中的 B 亚基含量比肝脏中的多, 相反, 肝脏所含的 A 亚基比心脏和肾脏中的含量多。胸肌的 A 亚基和 B 亚基含量是相近似的。

Fritz^[6,7] 等人提出 LDH 同工酶表达的调控过程是十分复杂的。它涉及到 LDHA 和 LDHB 基因表达的产物 A 亚基和 B 亚基的合成的控制上, A 和 B 亚基的降解及各四聚体降解等因素上。这样, A 和 B 亚基之间不是随机地自由组合, 而是按特定的方式形成特异的同工酶谱^[8]。我们的实验结果符合 Fritz 的看法。从初生鸭肝脏的 LDH 基因座的表达的酶谱看, 显然是 A 和 B 两种亚基在非自由组合的情况下产生的结果。在有些组织中 A 亚基和 B 亚基相差 6~15 倍之多, 这说明产生 A 和 B 亚基的表达过程是被一个严格的调控系统控制着的。正如 Nagamine, M.^[9]、Shaklle, J B.^[10] 和 Shows, T B^[11] 证明在哺乳类和鸟类中存在着一个调节基因控制 LDHA 和 LDHB 两个基因表达。另外初生鸭心脏的 LDH₅ 和 LDH₄ 的消失可能是形成四聚体后降解而消失的。

表 1 初生北京鸭 LDH 同工酶的 A 和 B 两种亚基的相对百分含量及相对比值
Table 1 The relative value (%) of LDH A and B subunits in the hatched duck tissues and their relative ratio (A/B, B/A)

	A %	B %	A / B	B / A
肝 Liver	30.1	69.9	0.43	2.32
肾 Kidney	13.1	87.0	0.15	6.66
心 Heart	5.9	94.1	0.06	15.89
胸肌 Breast muscle	51.6	48.4	1.07	0.94

由此可看到 LDHA 和 LDHB 基因的表达速率的差别或翻译后装配成全酶过程中的调节以及亚基的降解都会影响 LDH 基因座表达方式。因此对不同组织产生不同的酶谱的机理还有待深入地研究才能获得确切的解答。

参 考 文 献

- [1] 李士鹏, 吴鹤龄. 北京鸭乳酸脱氢酶同工酶的研究 I. 薄层等电聚焦电泳分离北京鸭 LDH 同工酶. 遗传学报, 1982, 13(1):60~65.
- [2] 赵邦梯等. 北京鸭肝脏线粒体 DNA 的限制酶图谱. 中国科学(B辑), 1983, 3:213.
- [3] 吴鹤龄, 李士鹏. 北京鸭乳酸脱氢酶同工酶的研究 III. LDH 座位在北京鸭发生过程中的表现方式. 遗传学报, 1987, 14(2):135~141.
- [4] Lindsay D T. Isozymic patterns and properties of lactate dehydrogenase from developing tissue of the chicken. J. Exp. Zool, 1963, 152:75.
- [5] Markert C L. Epigenetic control of specific protein synthesis in differentiating cell. In: Cyto-differentiation and macromolecula synthesis, ed. by Michael Looke, 1963.
- [6] Fritz P J et al. New theory of the control of protein concentration in animal cell. Nature, New Biol, 1971, 230:119.
- [7] Fritz P J. Lactate dehydrogenase isozymes turnover in rat heart, skeletal muscle, and liver. Biochem, 1973, 12:4034.
- [8] Leberherz H G. On the regulation of lactate dehydrogenase isozyme concentrations in mammalian cells. Experientia, 1974, 30:655.
- [9] Nagamine M. Serum inactivator to M subunit of lactate dehydrogenase isozymes. Clin. Chem. Acta, 1974, 50:173.
- [10] Shakle J B In: International conference on isozyme, 3rd. ed. by Clement L. Markert, 1974.
- [11] Shows T B et al. Function of the lactate dehydrogenase B gene in mouse erythrocytes: evidence for control by a regulatory gene. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 1968, 61:574.

THE EXPRESSION PATTERNS OF LDH LOCUS IN THE NEW HATCHED BEIJING DUCK

Wu Heling, Li Shipeng

(Department of Biology, Peking University, Beijing 100080)

Abstract

By using a combination of electrophoretic and spectrophotometric methods, the analysis of LDH isoenzymes of the 4 tissues of the new hatched duck was carried out.

The results demonstrated that there existed 11 LDH isoenzyme bands in liver, which was 6 bands more than that usually obtained in starch electrophoresis.

It has been found that 3 expression partterns of LDH Loci present in the hatched duck tissues: A typical A type LDH in the liver, AB type LDH in the breast muscle and a typical B type LDH in the heart and kidney.

Key words LDH locus, LDH isoenzyme, Isoelectric fucasing electrophoresis, Hatched duck, Expression patterns