

德州驴血清LDH同工酶特性的研究

吴锦淑, 杨从军, 侯文通, 段玉兰 (1. 青岛农业大学教务处, 山东青岛266109; 2. 青岛农业大学植物保护学院, 山东青岛266109; 3. 西北农林科技大学动物科技学院, 陕西杨凌712100)

摘要 应用中心产区简单随机抽样方法采集73头山东省沾化县德州驴的血液, 用垂直平板聚丙烯酰胺凝胶电泳(PAGE)技术检测了LDH同工酶多型。结果表明, 大部分个体都显示4条带, 少数个体表现为5条活力带, 个体间的差异很大。但整个群体LDH的变化特点为 $LDH_3 > LDH_4 > LDH_1 > LDH_2 > LDH_5$ 。

关键词 简单随机抽样; 聚丙烯酰胺凝胶电泳; LDH同工酶

中图分类号 Q956 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2007)25-07864-02

Study on Characters of LDH Isozymes of Dezhou Donkey

WU Jing-shu et al (Teaching Administration Department, Qingdao Agricultural University, Qingdao, Shandong 266109)

Abstract Blood samples of 73 individuals of Dezhou donkey from Zhanhua County in Shandong Province were collected by simple random sampling in a typical colony. LDH isozyme polymorphism were detected by polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE). The results showed that the LDH spectrum existed great difference among individuals. There were 4 LDH bands in most individuals, but 5 bands in a few individuals. The LDH variation trend were as follows: $LDH_3 > LDH_4 > LDH_1 > LDH_2 > LDH_5$.

Key words Simple random sampling; PAGE; LDH isozyme

LDH同工酶是目前研究最多的一种酶, 它参与糖的代谢。LDH普遍存在于哺乳动物的组织和体液中, 由H、M2个亚基根据不同的排列组合构成5种不同形式的四聚体, 即 LDH_1 、 LDH_2 、 LDH_3 、 LDH_4 、 LDH_5 。LDH同工酶的生成受代谢物和遗传基因的双重控制, 因而在LDH同工酶电泳酶谱上, 会出现种属特异性和组织特异性。这些酶谱类型能够更好地反映出动物近缘种、品种及类群间的遗传特异性。LDH同工酶能够表现出各种动物的种属、组织器官及生长发育的特异性, 故其不仅是一个生理生化指标, 还是一个可靠的遗传学指标^[1]。

1 材料与方

1.1 材料来源 试验在山东省沾化县进行, 以中心产区简单随机抽样方法采集的73头德州驴(成年驴)的血液, 进行实验室分析。在颈静脉采血约10 ml, 装入加有抗凝剂的洁净试管, 用离心机分离出血清, 置于冰箱中保存。

1.2 方法 采用聚丙烯酰胺凝胶电泳(垂直板电泳)在相同条件下对LDH同工酶多型进行检测, 采用岛津薄层自动扫描仪测定其相对活性。

2 结果与分析

2.1 德州驴血清乳酸脱氢同工酶 对德州驴群体的检测发现, 大部分个体都显示4条活力带, 少数个体表现为5条活力带, 个体间的差异很大, 但整个群体LDH的变化特点为 $LDH_3 > LDH_4 > LDH_1 > LDH_2 > LDH_5$ (图1)。由图2可以看出, 关中驴、晋南驴、庆阳驴的LDH同工酶酶谱有相似之处; 佳米驴、新疆驴、凉州驴的LDH同工酶酶谱有相似之处; 德州驴的LDH同工酶酶谱与关中驴、佳米驴等相比存在一定的差异。这可能与它们之间的亲缘关系及所处的生态环境有关。

2.2 德州驴血清LDH同工酶的新变异型 该研究采用聚丙烯酰胺凝胶电泳和薄层自动扫描仪, 大大提高了LDH同工酶的分辨率, 发现了新的变异型: 2条 LDH_2 带、2条 LDH_3 带及在 LDH_3 和 LDH_4 之间的新酶带—— LDH_k (图3~5), 正常酶谱图见图1。为确定其真实性, 对这些样品进行多次重

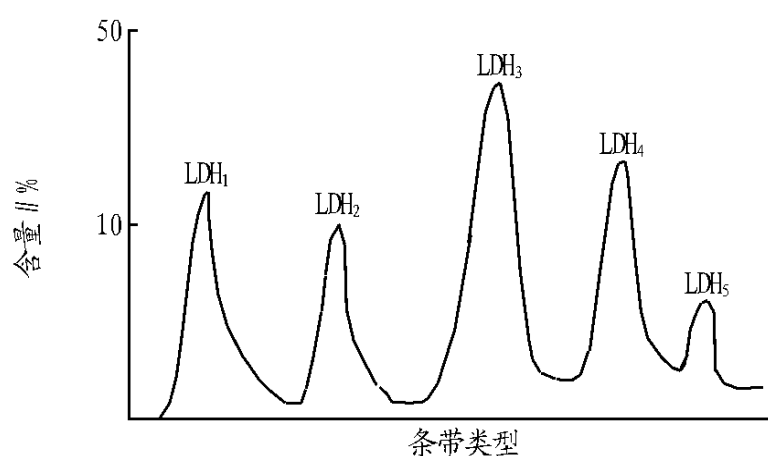


图1 德州驴LDH正常同工酶扫描曲线

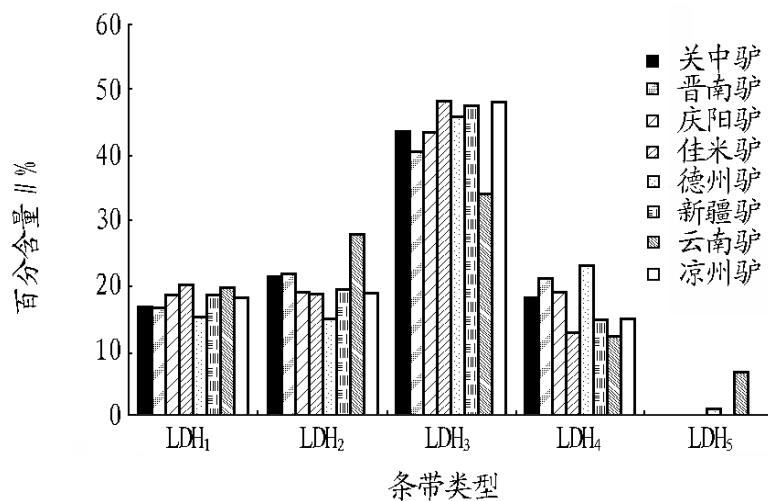


图2 不同驴品种LDH同工酶酶谱比较^[2-3]

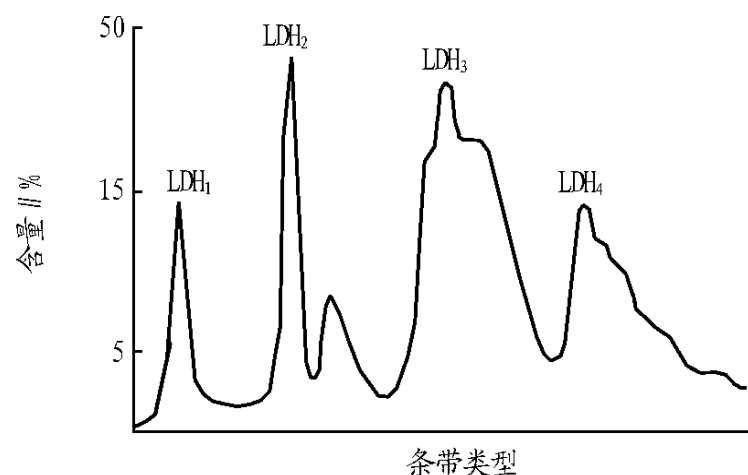


图3 德州驴LDH₂变异型同工酶扫描曲线

复测定, 其结果完全相同, 笔者认为德州驴的新变异型。

3 讨论

同工酶(Isozyme)是指催化某一反应的酶在同一机体内

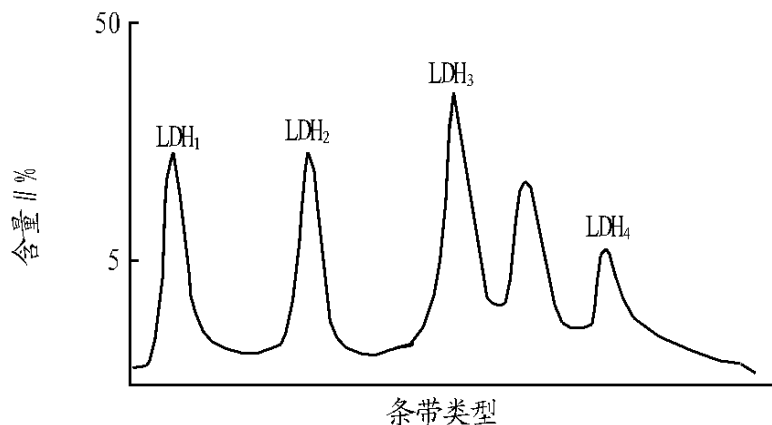


图4 德州驴LDH₃变异型同工酶扫描曲线

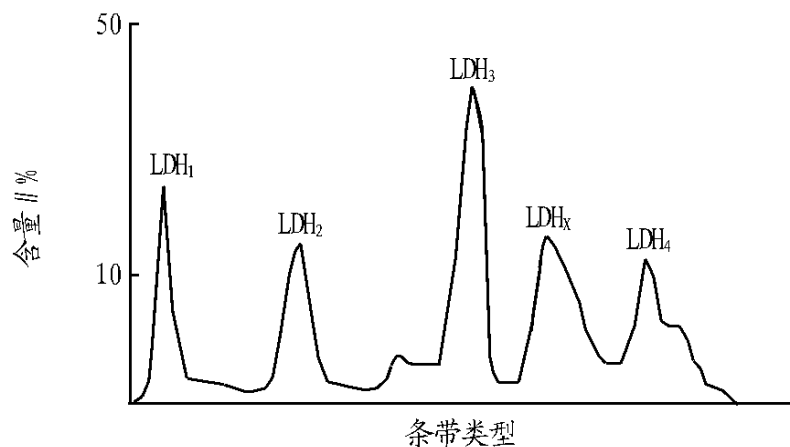


图5 德州驴LDH₃和LDH₄变异型同工酶扫描曲线

以几种不同的分子形式存在,即在同一种属中,同工酶是不同基因座位或等位基因编码的多肽链的单体或杂交体。Mister 从牛心中分离提取LDH同工酶,首先发现了LDH同工酶的不均一性^[4]。最近有研究表明,LDH同工酶的H亚基和M亚基有突变种,导致作LDH同工酶分析时在电泳谱上发现5条以上的区带。该试验采用聚丙烯酰胺凝胶电泳方法,在分辨率大大提高的前提下,发现2条LDH₂带、2条LDH₃带及在LDH₃和LDH₄之间的新酶带——LDH_x。笔者认为这是德州驴的变异型。关中驴在LDH₄和LDH₅带间有LDH_x、LDH_y2条新酶带^[2],与该试验得出的位置显然不同。

20世纪70年代初,Ritz等提出,LDH同工酶表达的调控过程十分复杂,主要涉及LDH同工酶的H和M亚基的合成、亚基合成四聚体后亚基的交换、H和M亚基的降解和各四聚体的降解等^[5]。这样,H和M亚基之间不是随机自由组合,而是按特定的方式形成特异性的同工酶酶谱。在通常情况下,H和M亚基突变种的发生率很低,为了解释这种现象,有人这样假定:一个突变种的相对形质包括产生H亚基的遗传学座位,四聚体在发生变异的个体中,可能包括正常的H和突变种的H2种亚基。于是LDH₁可能包含HHHH、H H H H、H H H H、H H H H、H H H H,构成5条有活力的区带。LDH₂可能是由HHHM、H H H M、H H H M、H H H M 4条酶带构成。类似的排列构成在LDH₃和LDH₄中亦可见到。出现M亚基的突变种时,亦可出现类似上述组合的排列,导致含有M亚基的同工酶出现多重带。据此,笔者认为,少数德州驴血清LDH同工酶表现出5条以上酶带,可能与H和M亚基的突变种有关;2条LDH₂的可能组成为HHHM、H H H M、H H H M或H H H H M;2条LDH₃的可能组成为HHMM、H H H M、H H H M或HHMM等;LDH₃和LDH₄之间出现的酶带LDH_x,若将其看成LDH₃的一条带,则其组成可能为HHMM、HHMM、HHMM、H H H M或H H H M等,若将其看成LDH₄的一条带,则其可能组成为HM MM、HM M M或HM M M。根据目前的研究,只能作上述假设,其遗传规律还有待进一步研究。

参考文献

- [1] 邓艳美,叶绍辉.牛血清LDH同工酶遗传多样性及其在遗传育种中的应用[J].山东农业科学,2006(1):99-100.
- [2] 王永军.中国部分驴血液蛋白质血液多态性和同工酶及其品种间遗传关系的初步研究[D].杨凌:西北农业大学,1989.
- [3] 高雪.中国驴种来源的遗传学研究[D].杨凌:西北农林科技大学,2001.
- [4] 王辉.同工酶及其方法论[J].生物技术,1992,2(2):1-4.
- [5] FRITZ P J. Lactic dehydrogenase isozyme turnover in rat heart, skeletal muscle and liver[J]. Biochem, 1973, 12: 4034.