

雷氏七鳃鳗 LDH 与 SOD 同工酶的电泳分析

金建丽 杨春文 金志民 安文和 (牡丹江师范学院 黑龙江牡丹江 157012)

摘要 [目的]为对圆口纲动物雷氏七鳃鳗的深入研究及开发利用提供基础的生理生化指标依据。[方法]采用聚丙烯酰胺凝胶垂直板电泳方法对雷氏七鳃鳗肌肉、肠、生殖腺、肝 4 种组织中乳酸脱氢酶(LDH)和超氧化物歧化酶(SOD)同工酶位点及其酶谱表型进行了研究。[结果]雷氏七鳃鳗不同组织中 LDH 同工酶呈二带型分布,肌肉和生殖腺中有 2 条带,而肠和肝中只呈现 1 条带;不同组织中 SOD 同工酶的谱带分布特点是:肌肉 10 条,肠 10 条,生殖腺 9 条,肝 12 条。[结论]SOD 和 LDH 同工酶在雷氏七鳃鳗 4 种组织中表达存在明显的组织特异性。

关键词 雷氏七鳃鳗; 乳酸脱氢酶; 超氧化物歧化酶; 同工酶; 电泳

中图分类号 S917 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2010)04-1741-02

Electrophoretic Analysis on SOD and LDH Isozyme of *Lampetra reissneri*

JIN Jian-li et al (Mudanjiang Normal University, Mudanjiang, Heilongjiang 157012)

Abstract [Objective] The study aimed to offer the basal physiological indexes in *Lampetra reissneri* of Cyclostomata for further research, exploitation and utilization. [Method] Vertical slab polyacrylamide gel electrophoresis method was used to analyze lactate dehydrogenase (LDH) and superoxide dismutase (SOD) isozyme loci and zymogram phenotypes of *Lampetra reissneri*'s four kinds of tissues including muscle, intestine, gonad and liver. [Result] Band distribution of LDH isozymes in different tissues of *Lampetra reissneri* was double banded. There were two bands in muscle and gonad while only one band was shown in intestine and liver. Band distribution of SOD isozyme in different tissues was characterized by muscle with ten, intestine with ten, gonad with nine, liver with twelve. [Conclusion] SOD and LDH isozymes expressed differently in 4 kinds of tissues of *Lampetra reissneri*, and there were significant tissue specificities.

Key words *Lampetra reissneri*; Lactate dehydrogenase; Superoxide dismutase; Isozyme; Electrophoresis

雷氏七鳃鳗(*Lampetra reissneri*)隶属圆口纲(Cyclostomata)七鳃鳗目(Petromyzoniformes)七鳃鳗科(Petromyzonidae)七鳃属(*Lampetra reissneri*)是珍稀的动物进化研究材料。雷氏七鳃鳗分布于朝鲜、日本九州、俄罗斯的阿纳的河等太平洋水系,分布于我国黑龙江、嫩江、牡丹江上游及支流、绥芬河的上游及支流等^[1-3]。雷氏七鳃鳗已被列入《中国濒危动物类红皮书》成为我国珍稀濒危水生野生动物之一,具有重要的保护价值^[4]。目前,对七鳃鳗的研究大多局限于形态结构、生态分布等方面^[4-8]。笔者对雷氏七鳃鳗的 4 种组织中 SOD 和 LDH 同工酶进行分离分析,以期对雷氏七鳃鳗的深入研究及开发利用提供生理生化指标依据。

1 材料与方法

1.1 试验动物 雷氏七鳃鳗于 2009 年 6 月捕于黑龙江省宁安市水域。

1.2 仪器 电泳电源 Ecp3000、垂直板电泳槽为 DYY-III 型,均为北京六一仪器厂生产;高速冷冻离心机 BECKMAN COULTERTM ALLEgra 64R Centrifuge;凝胶成像系统 MultiImage Light Cabinet Alpha Innotech Corporation。

1.3 试剂 丙烯酰胺、甲叉双丙烯酰胺、HCl、TEMED、Tris、甘氨酸、蔗糖、溴酚蓝、过硫酸铵、NBT、PMS、EDTA、NaCl、NAD⁺、乳酸钠、琼脂糖、冰乙酸、甘油等,均为国产分析纯或生化试剂。

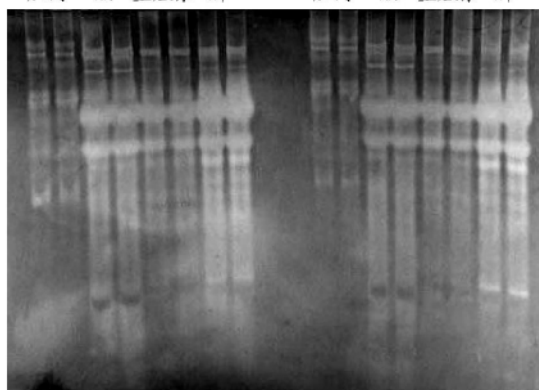
1.4 试验方法 采用常规聚丙烯酰胺凝胶垂直板电泳的方法^[9]对雷氏七鳃鳗肌肉、肠、生殖腺、肝 4 种组织超氧化物歧化酶(SOD)和乳酸脱氢酶(LDH)同工酶进行分离分析。

2 结果与分析

SOD 是一种催化超氧化物阴离子自由基发生歧化反应

生成氧和过氧化氢的酶。它是研究生物抗逆境与清除自由基有关反应机理的特殊工具酶。图 1、表 1 表明,在雷氏七鳃鳗 4 种组织中分离出 SOD 同工酶 SOD₁~SOD₁₅ 15 条酶带;肌肉中分离出 SOD₅₋₁₁、SOD₁₃₋₁₅ 10 条酶带;肠中分离出 SOD₂₋₄、SOD₇₋₉、SOD₁₁₋₁₄ 10 条酶带;生殖腺中分离出 SOD₃₋₄、SOD₇₋₉、SOD₁₁₋₁₄ 9 条酶带;肝中分离出 SOD₁₋₅、SOD₇₋₉、SOD₁₁₋₁₄ 12 条酶带。在 SOD₁₋₁₅ 15 条酶带中, SOD₇₋₉、SOD₁₁、SOD₁₃₋₁₄ 6 条酶带为 4 种组织中的共有条带, SOD₇₋₉ 3 条酶带在 4 种组织中均为主要条带,染色深、活力强。在雷氏七鳃鳗 4 种组织中 SOD 存在明显的组织特异性。肝脏中 SOD 同工酶活性明显高于肌肉、肠、生殖腺 3 种组织。肝脏是机体非常重要的免疫器官,在雷氏七鳃鳗的防御系统中发挥着重要的作用。SOD 在这种器官中的高效表达也是

肌肉 肠 生殖腺 肝 肌肉 肠 生殖腺 肝



注:上端为阴极,下端为阳极;从左至右依次为肌肉、肠、生殖腺、肝。下同。

Note: The top is cathode and the bottom is anode; The bands from left to right were muscle, intestine, gonad, liver respectively. The same as below.

图 1 雷氏七鳃鳗 SOD 同工酶电泳图谱

Fig. 1 The band pattern of SOD isozyme in *Lampetra reissneri*

基金项目 黑龙江省教育厅科技项目(10551317)。

作者简介 金建丽(1959-),女,黑龙江海伦人,教授,从事动物分子生物学及生物化学方面的研究。

收稿日期 2009-11-26

表1 雷氏七鳃鳗 SOD 同工酶电泳谱带分布及电泳迁移率

Table 1 Distribution of SOD isozyme zymogram and the mobility of SOD in *Lamprey reissneri*

迁移率 R _m	SOD	肌肉 Muscle	肠 Intestine	生殖腺 Gonad	肝 Liver
0.102	SOD ₁₅	—	—	—	—
0.161	SOD ₁₄	—	—	—	—
0.234	SOD ₁₃	—	—	—	—
0.263	SOD ₁₂	—	—	—	—
0.328	SOD ₁₁	—	—	—	—
0.361	SOD ₁₀	—	—	—	—
0.387	SOD ₉	—	—	—	—
0.431	SOD ₈	—	—	—	—
0.491	SOD ₇	—	—	—	—
0.542	SOD ₆	—	—	—	—
0.586	SOD ₅	—	—	—	—
0.635	SOD ₄	—	—	—	—
0.672	SOD ₃	—	—	—	—
0.861	SOD ₂	—	—	—	—
0.985	SOD ₁	—	—	—	—

注:表中的横线表示谱带的分布,线的深浅表示染色的程度。下同。

Note: The horizontal line is distribution of SOD isozyme zymogram and different sizes of the line is dyeing in the table. The same as follows.

与其生理机能相对应的。肠、肌肉和生殖腺中 SOD 同工酶活性较强,表明这几种组织有较强的抗逆境能力。

图2、表2表明,雷氏七鳃鳗的肌肉组织和生殖腺中只有 LDH₁ 1条带,肠和肝脏则有 LDH₁₋₂ 2条带,其相对活性在肠和肝中为 LDH₂ > LDH₁; 其中 LDH₂ 在4种组织中均为主带,活性最高。生殖腺中 LDH₂ 含量相对较高,应与雷氏七鳃鳗生殖腺合成代谢比较旺盛有关。6~7月是雷氏七鳃鳗的繁殖季节。该试验所用材料取自6月中旬,正是雷氏七鳃鳗的繁殖旺盛时期,此时生殖腺的合成代谢比较旺盛。这与该试



图2 雷氏七鳃鳗 LDH 同工酶电泳图谱

Fig.2 The band pattern of LDH isozyme in *Lamprey reissneri*

(上接第1666页)

对原油的降解率基本维持在 57.00% ~ 65.00%。

3 结论

(1) 从宁波象山港主航道的表层海水和宁波镇海炼化厂卸油区域受原油污染土壤中筛选得到 S-3、T-1 和 T-2 共 3 株丝状石油降解真菌,初步判断分别为丝壶菌属 (*Hyphochytrium* Zopf)、网囊霉属 (*Dictyuchus* Leitgeb) 和腐霉属 (*Pythium* Pringsheim)。

(2) 3 株丝状石油降解真菌降解原油均具有快速高效的特点,对原油的平均降解率在 57.00% ~ 65.00%。S-3 菌株耐油性强,能适应寡氮磷营养环境;T-1 和 T-2 菌株耐高氮磷营养环境,但高原油浓度不利于其对原油的生物转化。

(3) 接种量在 0.5% ~ 1.0% 时,3 株丝状石油降解真菌对原油降解效果最佳,具有良好的实际可操作性。

综上所述,丝状石油降解真菌作为一种生物治理石油污染的新型微生物资源具有良好的应用前景。

参考文献

[1] YANG G P, ZHANG L, SUN X J et al. Photochemical degradation of crude

表2 雷氏七鳃鳗 4 种组织 LDH 谱带分布及电泳迁移率

Table 2 The distribution of LDH zymogram and the mobility of LDH in *Lamprey reissneri*

迁移率 R _m	LDH	肌肉 Muscle	肠 Intestine	生殖腺 Gonad	肝 Liver
0.241	LDH ₂	—	—	—	—
0.270	LDH ₁	—	—	—	—

验结果相符。糖酵解作用不仅是动物的某些组织在低温缺氧环境中的重要供能方式,而且是动物整体在低温环境中的重要供能途径^[10]。雷氏七鳃鳗长年生活在温度较低的水中,并且不喜活动,而其糖酵解作用也比较旺盛。这说明雷氏七鳃鳗对环境的适应性。由此可知,雷氏七鳃鳗 4 种组织中 SOD 和 LDH 同工酶在条带分布及酶的含量方面存在明显的组织特异性。

参考文献

[1] JANVIER P. Palaeontology modern look for ancient lamprey [J]. Nature, 2006, 443:921-924.
 [2] 林斌彬, 张子平, 王艺磊等. 七鳃鳗遗传多样性与演化研究进展 [J]. 动物学杂志, 2009(1):159-166.
 [3] JANVIER P, LUND R. *Hardistiella montanensis* N gen et sp. (Petromyzontidae) from the Lower Carboniferous of Montana with remarks on the affinities of the lampreys [J]. Journal of Vertebrate Paleontology, 1983, 2:407-413.
 [4] 高琪, 逢越, 吴毓等. 日本七鳃鳗 (*Lampetra japonica*) 口腔腺表达序列标签 (EST) 分析 [J]. 遗传学报, 2005, 32(10):1045-1052.
 [5] 李淑兰, 胡晓菊. 瑞氏七鳃鳗乳酸脱氢酶 (LDH) 同工酶凝胶电泳分析 [J]. 生物技术, 1996, 6(6):18-20.
 [6] MAYER W E, JUNIKOOL T, TICHY H et al. Isolation and characterization of lymphocyte-like cells from a lamprey [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2002, 99(22):14350-14355.
 [7] 王天才, 徐桂林, 李宪明等. 嫩江上游甘河河段雷氏七鳃鳗生态学特征资料 [J]. 黑龙江水产, 2004(4):27-29.
 [8] 王岫霖, 景国荣, 曲竟南等. 溪七鳃鳗 *Lampetra reissneri* (Dybowski) (1) 染色体的初步观察 [J]. 哈尔滨师范大学自然科学学报, 1985(2):75-76.
 [9] 李建武, 萧能, 余瑞元等. 生物化学实验原理和方法 [M]. 北京:北京大学出版社, 1994:189-196, 345-357.
 [10] LI D Y. Seasonal changes of lactate dehydrogenase isozymes and blood glucose concentration in *Nyctus nuctula* and *Rana nigromaculata* [J]. Acta Physiologica Sinica, 1994, 46(3):267-272.

oil in seawater [J]. Chinese Journal of Oceanology and Limnology, 2006, 26(3):264-269.
 [2] 杨雪莲, 李凤梅, 刘婉婷等. 高效石油降解菌的筛选及其降解特性 [J]. 农业环境科学学报, 2008, 27(1):230-233.
 [3] OLUWAFEMI S O, SUNDAY A A, ADAMS O A et al. Differential degradation of crude oil (Bonny Light) by four *Pseudomonas* strains [J]. Journal of Environmental Sciences, 2009, 21:243-248.
 [4] 刘海燕, 李明, 丁存宝. 海洋石油降解菌株选育及组合降解优化 [J]. 安徽农业科学, 2009, 37(15):6892-6893.
 [5] 陈碧娥, 刘祖同. 海洋丝状真菌转化石油烃的研究 [J]. 石油学报, 2002, 18(3):13-17.
 [6] 林凤翔, 于占国, 李洪等. 海洋丝状真菌降解原油研究 I. 石油烃降解的实验室模拟 [J]. 海洋学报, 1997, 19(6):68-76.
 [7] 林凤翔, 冯志权, 李洪等. 海洋丝状真菌降解原油研究 II. 沙砾中油污去除室内模拟实验 [J]. 海洋学报, 1997, 19(6):68-76.
 [8] 城市建设环境科学出版社. 环境监测方法 [M]. 北京:中国环境科学出版社, 1986:143-146.
 [9] 魏景超. 真菌鉴定手册 [M]. 上海:上海科学技术出版社, 1979.
 [10] KATSIVELA E, EDWARD R B M, KA-LOGERAKIS N. Biodegradation of aliphatic and aromatic hydrocarbons: specificity among bacteria isolated from refinery waste sludge [J]. Water, Air and Soil Pollution: Focus, 2003, 3:103-115.
 [11] ALFRED M S, WIDDEL F. Metabolism of alkylbenzenes, alkanes, and other hydrocarbons in anaerobic bacteria [J]. Biodegradation, 2000, 11:85-105.