

中国大鲵乳酸脱氢酶同工酶研究

I 组织分布*

马成仓

王子浩

(淮北煤炭师范学院生物系, 淮北 235000)

(陕西师范大学生物系, 西安 710062)

提 要

采用垂直板聚丙烯酰胺凝胶电泳和紫外分光光度法分析大鲵 15 种组织的乳酸脱氢酶 (LDH) 同工酶后发现: 在正常生理条件下, 大鲵体内只有 H_4 和 M_4 两种同工酶, 红细胞只有 M_4 一种同工酶; 大鲵体内 LDH 同工酶中, 以 M_4 占绝对优势; 除生殖腺及脑外, 在幼体至成体的发育过程中, LDH 同工酶未见变化; 大鲵体内各组织 LDH 含量及前述两种同工酶相对含量不同。

关键词 大鲵, LDH 同工酶, 组织分布

自五十年代乳酸脱氢酶同工酶发现以来, 对于哺乳动物^[1, 2]、鸟类^[3]和鱼类^[4-6]的研究都已有过不少报道, 但有关两栖类和爬行类的研究比较少见。本实验研究了大鲵 [*Megalobachus davidianus*. (Blanchard)] LDH 同工酶的组织分布特点。

1 材料和方法

1.1 材料

本实验共用 8 条性别不同, 体重不同 (在一定程度上反映发育程度不同)¹⁾ 的大鲵 (表 1), 其中 5 条采自陕西省略阳县, 自然生长, 3 条来自陕西省太白县大鲵饲养场。采购回的大鲵先在室内以小金鱼、杂鱼及泥鳅等作为饲料, 在约 15℃ 水温驯养一个月后供试。

表 1 大鲵的性别和体重

Tab.1 Sex and body weight of *M. davidianus*

| 编号 No. | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
|------------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| 性别 sex | ♀ | ♂ | ♀ | ♀ | ♀ | ♂ | ♂ | ♂ |
| 体重 (kg) body weight | 0.10 | 0.40 | 0.40 | 0.66 | 1.20 | 1.40 | 2.07 | 2.70 |

* 本文是根据马成仓硕士毕业论文整理而成, 是在蓝天鹤教授指导下完成的, 谨以致谢!

1) 方荣盛等。大鲵的个体发育研究。陕西省动物学会论文集, 1981。

1993 年 6 月 28 日收到。

1.2 样品制备及分析方法

取每条受试大鲵的心、肝、脾、肺、肾、骨骼肌、胰、胃、肠、生殖腺、脑、眼睛、红细胞、血清等 15 种组织。血液样品制备采用牛满江等的方法并稍作改进,其它样品制备采用罗莉中^[7]的方法(但不用热处理),制成电泳样品。电泳采用方丁^[8]推荐的方法,分离胶浓度为 5.5%,凝胶染色按 Show 的方法^[9],加以改进。凝胶板用日本 JOOKOO 公司的扫描仪,取 570nm 波长的扫描记录。

1.3 酶活力测定及表示方法

P-L 法^[10]:由 0.05mol/L 磷酸盐缓冲液组成的 pH 6.4 的混合物,其中包括新鲜配制的 NADH 0.167mmol/L,丙酮酸 0.5mmol/L,反应在 37℃ 下进行,用 7520 型分光光度计(1cm 比色皿)测 340nm 处光密度变化值。活力以每分钟光密度减少值表示。

L-P 法^[10]:由 0.05mol/L Gly-NaOH 缓冲液组成的 pH 10.0 的混合物,其中包括新鲜配制的 NAD 5mmol/L,乳酸钠 50mmol/L,反应在 37℃ 下进行,用 7520 型分光光度计(1cm 比色皿)测 340nm 处光密度变化值。活力用每分钟光密度增加值表示。

上述两种方法酶活力单位定义为:每分钟在上述系统下消光度变化 0.001 为一个活力单位。

2 结果

2.1 大鲵不同组织的 LDH 同工酶比较

比较大鲵 15 种不同组织的 LDH 同工酶谱(图 1)及扫描图(图 2)可知:大鲵体内只存在 H₄(LDH₁)和 M₄(LDH₅)两种同工酶,而且 M₄ 的含量远高于 H₄ 的含量,即使是在心肌这种含 H₄ 较高的组织中,M₄ 含量也占 40%。根据这两种同工酶相对含量的不同,可以把 15 种组织区分为三种类型:第一,M₄ 占绝对优势的,如骨骼肌、肝、脾、胰、肠、睾丸、血清等,M₄ 含量约占 90%。第二,M₄ 与 H₄ 含量近乎相等,如心肌、肺、肾、胃、眼、卵巢等,M₄ 与 H₄ 含量几乎各占 50%。第三,只有 M₄ 而无 H₄ 的,如红细胞。



图 1 大鲵不同组织器官 LDH 同工酶电泳图谱

1. 心脏, 2. 肝脏, 3. 脾脏, 4. 肺, 5. 肾, 6. 骨骼肌, 7. 胰, 8. 胃, 9. 小肠, 10. 精巢, 11. 卵巢, 12. 脑, 13. 眼, 14. 红细胞, 15. 血清

Fig.1 The electrophoretic patterns of LDH isozymes in various tissues and organs of *M. davidianus*

1. heart; 2. liver; 3. spleen; 4. lung; 5. kidney; 6. skeletal muscle; 7. pancreas; 8. stomach; 9. small intestine; 10. spermary; 11. ovary; 12. brain; 13. eye; 14. red cell; 15. serum

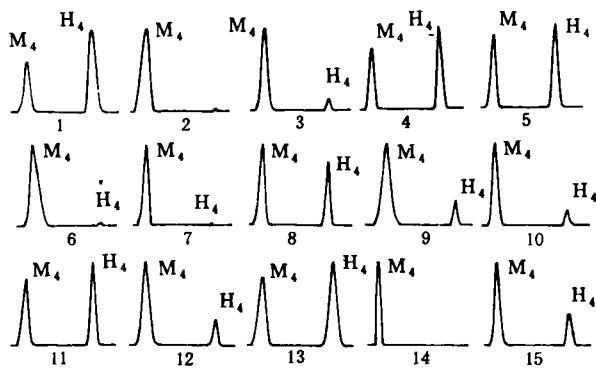


图 2 大鲵 LDH 同工酶电泳扫描图

1. 心脏, 2. 肝脏, 3. 脾脏, 4. 肺, 5. 肾, 6. 骨骼肌, 7. 胰, 8. 胃,
9. 小肠, 10. 精巢, 11. 卵巢, 12. 脑, 13. 眼, 14. 红细胞, 15. 血清

Fig.2 Electrophoretic scanning patterns of the LDH isozymes from *M. davidianus*

1. heart; 2. liver; 3. spleen; 4. lung; 5. kidney;
6. skeletal muscle; 7. pancreas; 8. stomach;
9. small intestine; 10. spermary; 11. ovary;
12. brain; 13. eye; 14. red cell; 15. serum

2.2 大鲵不同发育时期 LDH 同工酶比较

对 8 条不同发育时期大鲵的 15 种组织中 LDH 研究的结果表明: 脑和精巢的 LDH₁ 含量随体重增大有减少的趋势, 如表 2 所示, 不同个体其它组织的同工酶带型不变, 含量相似, 各个体都只有 M₄ 及 H₄ 两种同工酶, 而且都以 M₄ 含量占优势。

表 2 大鲵不同发育时期脑和精巢 LDH₁ 相对含量

Tab.2 The relative content of LDH₁ in brain and spermary of different developmental stages of *M. davidianus*

| 组 织 | 体重(kg) | 0.10 | 0.40 | 0.40 | 0.66 | 1.20 | 1.40 | 2.07 | 2.70 |
|-------------|------------------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| | LDH _I 相对 含量(%) | | | | | | | | |
| 脑 brain | | 23.6 | 23.9 | 16.6 | 13.7 | 7.5 | 16.4 | 9.6 | 1.9 |
| 精巢 spermary | | | | 23.7 | | | 11.1 | 7.2 | 6.7 |

2.3 大鲵不同组织 LDH 及同工酶含量

统计 8 条大鲵各组织 LDH 及其同工酶的含量如表 3。

3 讨论

大多数脊椎动物体内 LDH 存在着 5 种同工酶形式, 而且已经证明, 哺乳动物体内 LDH 同工酶是由 M 亚基及 H 亚基随机组合的^[8]。有一些动物表现出来的 LDH 同工酶的多样性是有限的, 例如 Markert 在研究 Fluke 时只发现一条主要的 LDH 同工酶带。又有人发现, 有些鱼有 H₄、M₄ 和 H₂M₂ 三条同工酶带, 有些则只有 H₄ 和 M₄ 两条主要的

表 3 大鲵不同组织 LDH 同工酶含量 ($\bar{X} \pm SD$)

Tab.3 Content of LDH isoenzymes in various tissues of *M. davidianus* ($\bar{X} \pm SD$)

| 组 织 | tissues | 心脏 | 肝 | 脾 | 肺 | 肾 | 骨骼肌 | 胰 | 胃 |
|--|------------|-----------------|-----------------|----------------|-----------------|-----------------|-----------------|----------------|-----------------|
| | | heart | liver | spleen | lung | kidney | skeletal muscle | panvreas | stomach |
| LDH 总活力 LDH total activity 单位 / 毫克 (unit / mg) | L-P method | 120.2 ± 14.3 | 39.5 ± 16.3 | 22.2 ± 9.0 | 10.4 ± 3.4 | 51.8 ± 5.5 | 144.0 ± 22.8 | 19.5 ± 6.7 | 36.5 ± 7.7 |
| | P-L method | 311.2 ± 39.9 | 136.4 ± 27.5 | 93.1 ± 22.8 | 42.6 ± 12.2 | 125.7 ± 14.3 | 610.5 ± 87.4 | 55.6 ± 17.5 | 107.5 ± 10.8 |
| LDH ₁ 相对活力 LDH ₁ relative activity (%) | | 62.6 ± 9.0 | 0.5 ± 0.6 | 9.3 ± 4.5 | 57.9 ± 13.1 | 49.7 ± 5.4 | 0.9 ± 0.5 | 1.8 ± 2.5 | 42.4 ± 7.1 |
| LDH ₅ 相对活力 LDH ₅ relative activity (%) | | 37.4 ± 9.0 | 99.5 ± 0.6 | 91.7 ± 4.5 | 42.1 ± 13.1 | 50.3 ± 5.4 | 99.1 ± 0.5 | 98.2 ± 2.5 | 57.6 ± 7.1 |
| LDH 总活力 LDH total activity 单位 / 毫克 (unit / mg) | L-P method | 20.7 ± 10.6 | 12.6 ± 6.6 | 26.2 ± 6.1 | 54.6 ± 16.0 | 21.0 ± 3.1 | | | |
| | P-L method | 73.2 ± 29.8 | 46.7 ± 12.6 | 68.8 ± 26.5 | 143.7 ± 30.3 | 58.6 ± 9.1 | | | |
| LDH ₁ 相对活力 LDH ₁ relative activity (%) | | 11.4 ± 5.7 | 12.0 ± 8.1 | 51.1 ± 24.3 | 14.2 ± 7.7 | 58.7 ± 6.9 | 0 | 25.8 ± 1.7 | |
| LDH ₅ 相对活力 LDH ₅ relative activity (%) | | 88.6 ± 5.7 | 88.0 ± 8.1 | 48.9 ± 24.3 | 85.8 ± 7.7 | 41.3 ± 6.9 | 100 | 74.2 ± 1.7 | |

同工酶带^[11], Goldberg^[12]发现豹蛙组织提取液中含有 3 种 LDH 同工酶。Sherr^[11]发现蝾螈仅有 H₄ 和 M₄ 两种同聚体同工酶。本研究结果证明, 与蝾螈同目的大鲵也只有同聚体同工酶。至于动物体内 LDH 同工酶多样性受到限制的机理, 究竟是由于 H 和 M 亚基之间的组合受到某种抑制, 还是 H 和 M 亚基可以自由组合, 但所形成的杂聚体会迅速解离或失活所致, 尚需进一步研究。

Brahma 证明, 有些两栖类动物的不同组织中, LDH 同工酶类是高度悬殊的。蒙义文^[13]发现, 中华大蟾蜍的几个主要器官中 LDH 的 M 亚基含量超过 H 亚基含量。本研究结果发现, 中国大鲵体内的 LDH M 亚基含量远大于 H 亚基含量。

参 考 文 献

- [1] 刘国富等. 高原鼠兔和高原鼯鼠乳酸脱氢酶同工酶的初步研究. 兽类学报, 1985, 5(3): 223—228.
- [2] 翁醒华等. 家兔不同组织中 LDH 同工酶的凝胶电泳分析. 杭州大学学报, 1985, 12(3): 381—385.
- [3] 李士鹏等. 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, 1986, 13(1): 60—65.
- [4] 熊全沐等. 中国胭脂鱼同工酶的研究. 动物学报, 1985, 31(1): 20—26.
- [5] Michael J, et al. Differential gene expression in multilocus isozyme systems of the developing green sunfish. *J. Exp. Zool.*, 1977, 196: 263—282.
- [6] Clement L M, et al. Lactate dehydrogenase isozyme patterns of fish. *J. Exp. Zool.*, 1965, 159: 319—332.
- [7] 罗莉中等. 金鱼乳酸脱氢酶的同工酶的发生遗传学研究 I. 鲫鱼和红龙睛金鱼各组织器官乳酸脱氢酶同工酶比较. 遗传学报, 1982, 9(5): 375—380.
- [8] 方 丁等. 同工酶在医学上的应用. 北京: 人民卫生出版社. 1982.
- [9] Charles R S, et al. Starch gel electrophoresis of enzymes—a compilation of recipes. *Biochemical Genetics*, 1970, 4: 297—320.
- [10] Plummer D T, et al. Organ specificity and lactate-dehydrogenase activity 2. some properties of human heart and liver preparations. *Biochem. J.*, 1963, 87: 423—429.
- [11] Master C J, et al. Haemoglobin, Isoenzymes and Tissue Differentiation. Amsterdam: North-Holland Publishing Company, 1975.
- [12] Goldberg E, et al. Electrophoretic and kinetic properties of rana pipiens LDH isozymes. *J. Exp. Zool.*, 1967, 165: 101—110.
- [13] 蒙义文等. 中华大蟾蜍卵母细胞发育过程中乳酸脱氢酶同工酶表现. 遗传学报, 1982, 9(6): 479—486.

STUDIES ON LACTATE DEHYDROGENASE ISOZYMES OF *MEGALOBATRACHUS DAVIDIANUS* I. DISTRIBUTION OF ISOZYMES IN VARIOUS TISSUES AND ORGANS

Ma Chengcang

(Department of Biology, Huaibei Teachers College, Huaibei 235000)

Wang Zihao

(Department of Biology, Shanxi Normal University, Xian 710062)

Abstract

Under normal conditions, two kinds of lactate dehydrogenase (LDH) isozymes H_4 and M_4 were found in *Megalobatrachus davidianus*. The other three kinds of isozymes (H_1M_3 , H_2M_2 , H_3M_1) were not found. The results of the LDH isozymes from fifteen tissues showed that each of the fourteen tissues contains two kinds of isozymes except the red cell. The red cells have only one (M_4). But the relative content in each tissue was different. M_4 isozyme was absolutely predominant compared with the other isozymes. During the development process from young to adult, the contents of LDH isozymes in tissues of *M. davidianus* were not changed except the brain and spermary. The content of LDH in every investigated tissues are different from each another.

Key words *Megalobatrachus davidianus*, LDH isozyme, Tissues distribution