

乌鳢不同组织的同工酶研究*

殷文莉 戴建华

(湖北师范学院 生物系, 湖北 黄石 435002)

摘要:采用聚丙烯酰胺凝胶电泳的方法对乌鳢(*Ophiocephalus argus*)的晶体、生殖腺、肝脏、脑、肾脏、脾脏、肌肉、心脏、消化道等九种组织中的酯酶、乳酸脱氢酶、过氧化物酶、苹果酸脱氢酶以及乙醇脱氢酶进行了研究,并对各种酶的同工酶位点表达及酶谱表现型进行了分析,结果表明同工酶存在不同程度的组织特异性。

关键词:乌鳢;同工酶;电泳

中图分类号:Q956 **文献标识码:**A **文章编号:**1009-2714(2000)03-0017-03

乌鳢(*Ophiocephalus argus*)是生活在天然水域中水生维管束植物繁茂地区的一种凶猛鱼类,分布广,生长速度快,肉味鲜美,营养丰富,经济价值高,近些年也引为人工养殖对象。为了促进乌鳢养殖业的发展和产量的提高,需要了解其生态、生理、生化与遗传等方面的生物学特性。同工酶是由基因决定的,研究同工酶可以从基因产物认识基因的存在及表达,由生化表现型反映基因型,进而从分子水平探讨有关种群遗传结构、物种间亲缘关系比较及系统分类、物种倍性分析、杂交育种、个体发育、生理病理及环境保护等方面的问题。本文利用生化遗传原理对乌鳢的种质进行研究,以同工酶在各组织的表达情况作为其生化遗传结构的指标,比较同工酶在组织间的差异,为乌鳢的种质标准和种质鉴定提供基础资料,促进我国淡水渔业的发展。

1 材料和方法

实验用鱼采自湖北省鄂州市花马湖,共 11 条。活体解剖,取晶体、卵巢、肝脏、脑、肾脏、脾脏、肌肉、心脏及消化道等组织。蒸馏水冲洗后按 1:2(重量:体积)加重蒸水冰浴匀浆,4℃条件下 16000r/min 离心 30min。吸取上清液 1:1 加 40%甘油混匀,冰箱冷冻保藏备用。

采用聚丙烯酰胺垂直板状凝胶连续电泳,凝胶浓度为 7.5%,交联度 2.5%,电泳原理和方法参见 Harris^[1],酶谱分析和命名参见熊全沫^[2,3]。电极缓冲液及染色方法见表 1。

2 实验结果

2.1 酯酶(EST 3.1.1.1)

鱼类的酯酶大多为单体酶,由多个位点控制。乌鳢的 EST 由 3 个位点控制。晶体、卵巢、脑、肾脏、脾脏、肌肉、心脏及消化道均由 ES-1、ES-2 二个位点控制,各由 A、B 两个等位基因编码,ES-3A 只在肝脏中表达(图 1)。

收稿日期:2000-03-10

作者简介:殷文莉(1966-),女,硕士,讲师。

* 湖北省自然科学基金资助项目(97J049)

表 1 同工酶的电泳及染色方法

酶	结构	电极缓冲液	染色方法
酯酶 EST3.1.1.1	单体	TB ⁽¹⁾	Brower ⁽⁴⁾
乳酸脱氢酶 LDH1.1.1.27	四聚体	TB	Siciliano ⁽⁵⁾
过氧化物酶 POX1.1.1.7	四聚体	TG ⁽²⁾	同上
苹果酸脱氢酶 MDH1.1.1.37	二聚体	TC ⁽³⁾	同上
乙醇脱氢酶 ADH1.1.1.1	二聚体	TC	Harris ⁽¹⁾

注: (1)0.008mol/L Tris-0.043mol/L Barbituric acid, pH7.5;

(2)0.025mol/L Tris-0.192mol/L Glycine, pH8.3;

(3)0.223mol/L Tris-0.086mol/L Citric acid, pH7.0

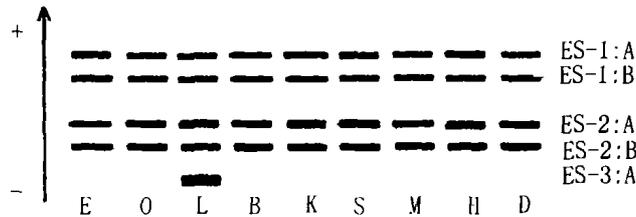


图 1 乌鳢不同组织的 EST 同工酶电泳图谱

E-晶体, D-卵巢, L-肝脏, B-脑, K-肾脏, S-脾脏, M-肌肉, H-心脏, D-消化道(以下各图与此相同)

2.2 乳酸脱氢酶(LDH 1.1.1.27)

多数鱼类的乳酸脱氢酶同工酶是由 A、B、C 三个等位基因编码的四聚体酶。A、B 两个等位基因分别编码 LDH-A、LDH-B 亚基, A、B 两个亚基随机组合形成 A₄、A₃B₁、A₂B₂、A₁B₃ 及 B₄ 等五种四聚体, 它们存在于各种组织中。基因 C 只存在于特定的组织中, 如脑、肝脏及晶体等。乌鳢 LDH 由 A、B 两个等位基因编码, 卵巢、肾脏、心脏、消化道等组织均有 A₄、A₃B₁、A₂B₂、A₁B₃ 及 B₄ 五条酶带; 肌肉中只有 A₄ 一种 LDH, 且活性极高; 肝脏中未检测到 A₄ 活性, 晶体及脾脏中未检测到 B₄ 活性; 脑组织样品的阳极端还有一条带, 可能是由 LDH-A₄ 经化学修饰而来(图 2)。

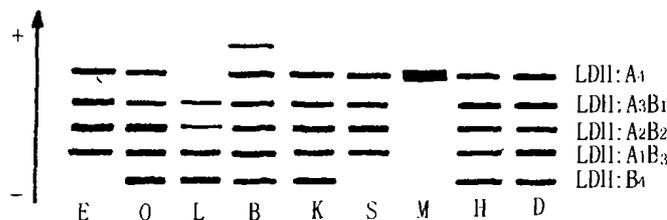


图 2 乌鳢不同组织的 LDH 同工酶电泳图谱

2.3 过氧化物酶(POX 1.1.1.7)

POX 的亚基结构和基因位点比较复杂。植物的 POX 一般被认为是由一个位点控制的单体或二聚体酶。鱼类 POX 的亚基组成还有待进一步研究。从已有的研究结果看, 有的鱼类 POX 被认为是二聚体酶, 有的则认为是单体酶, 还有的认为是四聚体酶^(6,7,8)

乌鳢 POX 是由 2 个位点控制的四聚体酶。脑、肾脏及脾脏中均具有 A₄、A₃B₁、A₂B₂、A₁B₃ 及 B₄ 等五条酶带; 卵巢中未检测到 A₄ 酶带; 肝脏、肌肉及消化道中均未检测到 A₄、A₃B₁ 酶带的活性; 晶体中只检测到 B₄ 的活性; 而心脏除具有 A₃B₁、A₂B₂、A₁B₃ 及 B₄ 酶带外, 还可以检测到一条由 POX-2 位点控制, 由 A 基因编码的 A₄ 酶带(图 3)。

2.4 苹果酸脱氢酶(MDH 1.1.1.37)

硬骨鱼类的 MDH 有线粒体(m-MDH)及上清液(S-MDH)两种类型, 两者均为由两个位点控制的二聚体酶。

乌鳢的 MDH 是由两个位点控制, A、B 两个等位基因编码的二聚体酶, 卵巢、脑、肾脏、脾脏均只

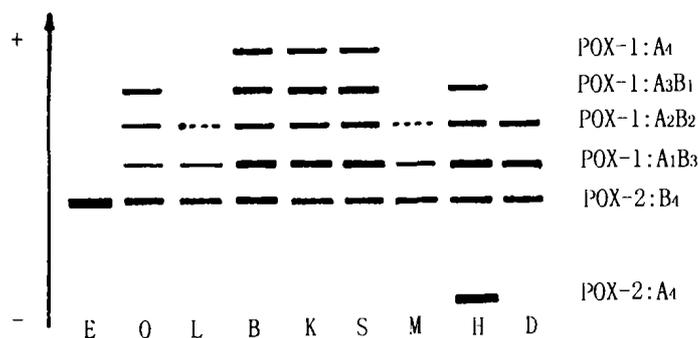


图3 乌鳢不同组织的POX同工酶电泳图谱

具MDH-1-AB酶带；晶体、心脏及消化道中未检测到MDH-1-A₂酶带的活性；MDH-1-A₂酶带只存在于肌肉组织中，MDH-2-A₂只在肝脏中能检测到(图4)。

2.5 乙醇脱氢酶(ADH 1.1.1.1)

一般鱼类的ADH为由一个位点编码的二聚体。乌鳢只在肝脏及肾脏中能检测到ADH的活性，这与肝脏分解乙醇的功能是相适应的。肾脏中ADH的量很少，因此活性很弱(图5)。

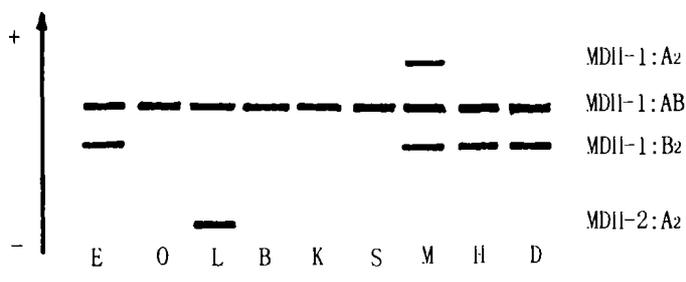


图4 乌鳢不同组织的MDH同工酶电泳图谱

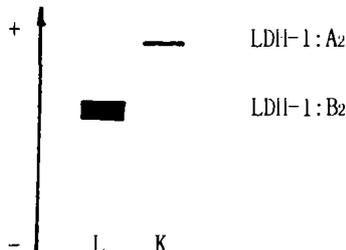


图5 乌鳢不同组织的ADH同工酶电泳图谱

3 分析与讨论

通过对乌鳢九种组织中的酯酶、乳酸脱氢酶、过氧化物酶、苹果酸脱氢酶及乙醇脱氢酶同工酶的研究发现，同工酶在动物体内不同组织中的表达存在差异，有的甚至很明显，ES-3A只在肝脏中表达；肌肉中只有LDH-A₄得到表达；晶体中亦只有POX-1-B₄表达，POX-2-A₄只在心脏中表达，此外，乌鳢各组织中只有肝脏及肾脏中能检测到ADH的活性。九种组织的各种酶的位点表达几乎都存在差异。同工酶基因的表达与动物个体发育相关，个体发育过程是基因差别表达的结果。在鱼类个体发育过程中，同工酶基因的表达表现出时间和空间上的变化，这种变化不仅是个体发育过程一般的生理代谢的需要，也与个体发育过程的细胞分化、形态发生和器官形成有关。大量实验证明，特异基因的表达产生了成体组织特异的同工酶谱，而这些组织特异的酶的表达是与其功能密切相关的。许多鱼类ADH在胚胎发育过程中没有活性，在孵化后的仔鱼才出现较低的活性。成体鱼肝脏组织中能检测到活性很强的ADH，这与肝脏分解乙醇的功能是相适应的；除肾脏能检测到很弱的活性外，其它的组织中均未能检测到ADH的活性。

LDH各种同工酶催化的反应是有差别的。LDH-B₄主要与体内乳酸的利用有关，LDH-A₄的作用则主要是催化乳酸的形成。由于肌肉中进行的主要是厌氧代谢，糖代谢产生的产物为乳酸，因此肌肉中LDH-A₄的活性非常强。这种现象也存在于黄鳝的肌肉组织中。

参考文献：

[1] Harris H, Hopkinson P A. Handbook of enzyme electrophoresis in human genetics. New York: American Elsevier, 1976. (下转第24页)

展的要求,同时满足信息管理对高速度、高可靠性的需求以及多应用的需求。能有效阻止来自互联网对防火墙及校园网的攻击,但不能有效地防止来自校园网内部用户的自攻击,如需要,可根据各自学校的环境进行 FireWall 的特殊设置。

参考文献:

- [1] Kerchenbaum, A. ;Malek, M. ;and Wall, M. eds(1990). Network Management and Control. New York:Plenum.
- [2] Mier, E(1991a). Network World, Bell Labs Test Touters's SNMP Agent. Network World, April 22.
- [3] Taldbusser, S. (1992). Applications Stand to Benifit from SNMP. The Simple Times, September/October 1992.
- [4] Wilkinson, S. ,and Capen, T. (1992). Remote Control. Corporate Computing, October
- [5] Andrew S. Tanenbaum 著 . Computer Networks(Third Edition). 北京:清华大学出版社 . 1998.
- [6] 董寿彬等译 . Linux 从入门到精通 . 北京:电子工业出版社, 1998.
- [7] 李泉,李保洪编著 . UNIX 网络技术 . 北京:人民邮电出版社, 1998.
- [8] 何军,王颖等编译 . SCO OpenServer 网络指南 . 北京:清华大学出版社, 1999.

Truss and implementation of firewall based campus network

ZHANG Guo-xiang

(Department of computer Science, Hubei Normal University, Huangshi 435002)

Abstract: This paper thiscusses the work principle of firewall and the truss in campus natuark, and utilizing the shareware "Linux" can implement the truss of firewall in campus network. The most virtue of this firewall is economic, practical and high secure.

Key words: campus network; Firewall; Linux; security

(上接第 19 页)

- [2] 熊全沫 . 鱼类同工酶谱分析(上). 遗传, 1992, 14(2): 41.
- [3] 熊全沫 . 鱼类同工酶谱分析(下). 遗传, 1992, 14(3): 47.
- [4] Brower G J. An introduction to isozyme techniques. Academic Press, New York, 1970.
- [5] Siciliano M J. Electrophoresis Techniques. Vol. I , Zone Electrophoreses, 4th edition London, 1976, 185.
- [6] 姜建国 . 青鱼不同组织中同工酶的表达模式 . 水生生物学报, 1997, 21(4): 353.
- [7] 郑曙明等 . 铜鱼和圆口铜鱼 10 种同工酶的比较研究 . 中国动物学会成立 60 周年: 纪念陈桢教授诞辰 100 周年论文集 . 北京: 中国科学技术出版社, 1994.
- [8] 黄韧敏等 . 鳊鱼同工酶的研究 . 中国动物学会成立 60 周年纪念论文集 . 北京: 中国科学技术出版社, 1994.

Studes on the isozymes of different tissues in

Ophiocephalus argus

YIN Wen-li, DAI Jian-hua

(Department of Biology, Hubei Normal University, Huangshi 435002)

Abstract: By using the vertical polyacrylamide gel electrophoresis, five isozymes (EST, LDH, POX, MDH, ADH) of *Ophiocephalus argus* from nine kinds of differentiated adult tissues (eye, ovary, liver, brain, kidney, spleen, muscle, heart, alimentary canal) were studied and the loci and phenotypes of the five isozymes were analysed. The results showed that the isozymes presented a specific tissue distribution. The physiological significance is disscussed in relation to the extersive tissue-specific distribution of the isozymes.

Key words: *Ophiocephalus argus*; Isozymes; electrophoresis