

东方铃蟾不同发育阶段乳酸脱氢酶同工酶的变化

郑元林 陈才法 茅一飞

(徐州师范学院生物系; 221009)

摘要 东方铃蟾乳酸脱氢酶(LDH)同工酶的表达在不同发育阶段以及不同的组织有其特异性。心脏中以 LDH-1 占优势,骨骼肌和肝脏中以 LDH-5 占优势,脑中 LDH-1 与 LDH-5 的相对含量接近。从鳃盖期至成体,心、肝、骨骼肌的 LDH 同工酶谱型不发生转换。心脏的 LDH 同工酶含量无阶段间的差异;肝、骨骼肌的 LDH 同工酶相对含量变化发生在从尾退化期至成体这一时期。在尾退化期,脑中 LDH 同工酶谱型发生转换,但 LDH 同工酶相对含量变化的幅度较小。

乳酸脱氢酶(LDH)同工酶是糖代谢中的重要酶类。在不同的生物组织以及不同的发育阶段 LDH 同工酶的表达各不相同,与其相应的代谢水平有关。作为明显的遗传标记,其电泳图谱在许多动物的生理生化、发育生物学、分子遗传学等方面研究中得到广泛的应用^[1,3,4]。盘

舌蟾科中的东方铃蟾(*Bombina orientalis*)为著名的“警戒色”代表,在我国从江苏省连云港至东北均有分布。至今在生理生化、发育遗传等方面研究甚少。为此我们研究了东方铃蟾在不同发育阶段 LDH 同工酶的变化。

材料与方 法

自1989年4月至5月在江苏省连云港市云台山采集了东方铃蟾的鳃盖期、尾退化期、成体期三个发育阶段的样本。分别取其心脏、脑、骨骼肌和肝脏四种组织,按 Markert 等人^[1]方法制备 LDH 同工酶电泳样品。

采用聚丙烯酰胺圆盘电泳法进行 LDH 同工酶的分离测定^[2]。凝胶浓度为 7.0%, pH 8.9, 电泳电流强度为 4mA/管。

电泳结束后取出凝胶,用吴鹤龄等人^[3]方

法进行染色固定,染色后的胶条用 DGS 型电泳光密度扫描仪扫描。并计算其 LDH 同工酶的相对含量。组间差异用方差分析进行。

结 果

(一) LDH 同工酶组织间的特异性 对东方铃蟾三个不同发育阶段四种组织 LDH 同工酶的测定表明:不同组织中五种 LDH 同工酶相对含量的变化是有规律的,构成了差异分明的电泳图谱,显示出确定的组织特异性(见图 1 a、b、c)。

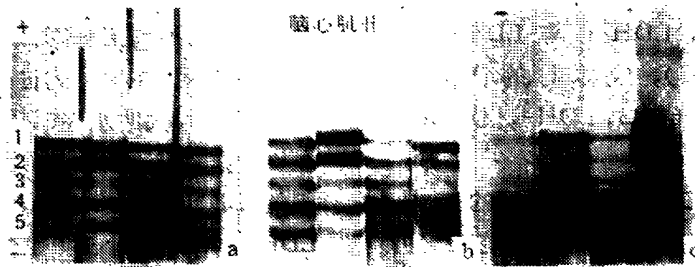


图 1 不同发育阶段东方铃蟾四种组织 LDH 同工酶的电泳图谱
a. 鳃盖期; b. 尾退化期; c. 成体

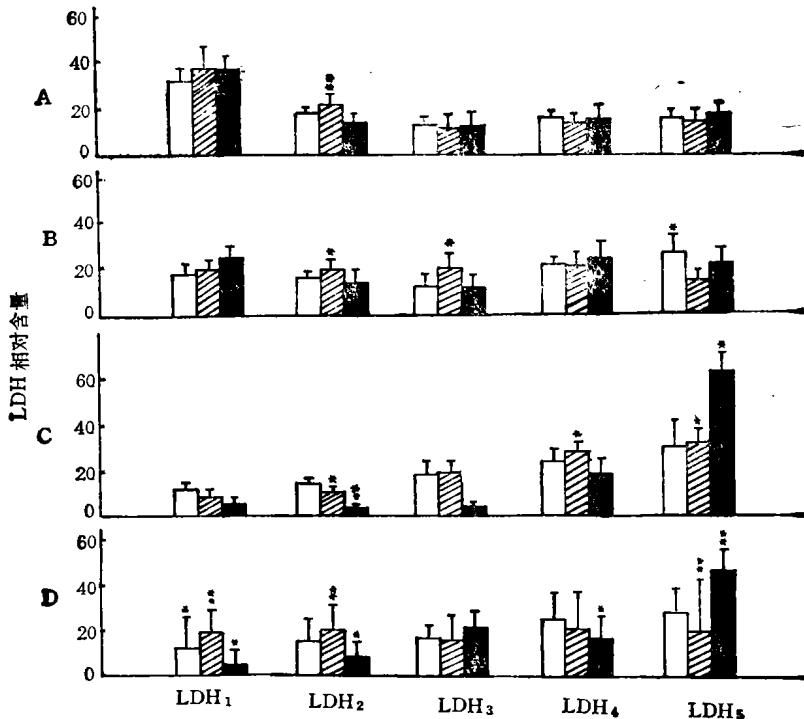


图 2 东方铃蟾不同发育阶段四种组织 LDH 同工酶的相对含量

A. 心 B. 脑 C. 肌 D. 肝 ** $P < 0.01$ * $P < 0.05$ □ 鳃盖期 ▨ 尾退化期 ■ 成体期

不同发育阶段东方铃蟾四种组织 LDH 同工酶相对含量(见图 2)。

在心脏的 LDH 同工酶中 LDH-1 占明显优势 ($P < 0.01$)。成体时 LDH-1 的相对含量为 38.07 ± 5.91 , 为 LDH-5 的 2.14 倍。并且心脏中 LDH-1 的相对含量也远远超出其余三种组织的 LDH-1 相对含量 ($P < 0.01$)。而在骨骼肌、肝脏的 LDH 同工酶中, LDH-5 则占明显优势 ($P < 0.01$), 成体的相对含量分别为 64.92 ± 6.76 ; 47.18 ± 9.05 , 也分别为 LDH-1 的 11.12 倍和 9.49 倍, 并且也远超过心脏、脑中 LDH-5 的相对含量 ($P < 0.01$)。脑中 LDH 同工酶表达较特殊, LDH-1 与 LDH-5 相对含量接近 ($P > 0.05$), 成体时的值分别为 25.72 ± 5.31 和 22.04 ± 6.43 , LDH-1 仅比 LDH-5 的高出 0.17 倍。

(二) LDH 同工酶发育阶段间的特异性
纵观 LDH 同工酶在不同发育阶段的变化可发现: 从鳃盖期至成体, 东方铃蟾心、骨骼肌、肝三种组织的 LDH 同工酶谱型较稳定。

东方铃蟾心脏中 LDH 同工酶的相对含量基本不随个体的发育而发生变化 ($P > 0.05$)。即使成体时 LDH 同工酶的相对含量也仍保持在鳃盖期时的水平。

东方铃蟾骨骼肌、肝脏在个体的发育中均表现为 LDH-5 占优势的同工酶谱型 ($P < 0.01$)。从鳃盖期至尾退化期, 骨骼肌及肝脏的 LDH-5 相对含量维持在同一水平上 ($P > 0.05$), 成体时骨骼肌、肝脏中 LDH-5 的相对含量得以进一步提高 ($P < 0.01$), 其中骨骼肌的 LDH-5 相对含量增加最多, 达 64.92 ± 6.79 , 为鳃盖期的 2.11 倍。

东方铃蟾脑中 LDH 同工酶谱型在个体发育过程中发生变化。鳃盖期为 LDH-5 略占优势的谱型, LDH-5 的相对含量为 26.69 ± 7.48 , 是 LDH-1 相对含量的 1.43 倍 ($0.05 > P > 0.01$), 至尾退化时期则转换为 LDH-1 略占优势的谱型, LDH-1 的相对含量为 20.15 ± 4.31 , 是 LDH-5 相对含量的 1.35 倍 ($0.05 > P > 0.01$), 成体时仍保持 LDH-1 略占优势的谱型,

LDH-1 相对含量为 25.72 ± 5.31 , 是 LDH-5 的 1.17 倍 ($P > 0.05$), 尽管谱型发生转换, 但在个体发育过程中, 脑中 LDH 同工酶相对含量的变化幅度较小。LDH-1 的相对含量在不同发育时期无显著差异 ($P > 0.05$), LDH-5 的相对含量仅在鳃盖期与尾退化期之间有显著差异 ($0.05 > P > 0.01$), 而其余发育时期则无显著差异 ($P > 0.05$), 基本维持了 LDH-1 与 LDH-5 水平接近的状态。

讨 论

乳酸脱氢酶是由 H 和 M 两个亚基构成的四聚体, 有五种同工酶形式, 每种同工酶起着不同的代谢作用, 在生物的进化过程中, 每种组织都形成了与其代谢水平相适应的 LDH 同工酶谱型^[3,4,5]。东方铃蟾不同组织同样显示出特定组织的 LDH 同工酶谱型, 骨骼肌及肝脏中的 LDH-5 相对含量占明显优势, 而 LDH-1 相对含量非常低下, 这与其它动物 LDH 同工酶在骨骼肌及肝脏中的表达一致^[1,3,4,5]。LDH-5 通过催化乳酸的形成而使糖酵解得以进行并产生能量。高浓度的 LDH-5 对满足骨骼肌、肝脏这样的组织在低氧或缺氧状态下的能量需要是非常重要的^[3,4,5]。东方铃蟾 LDH 同工酶在心脏中的表达也与其它动物相似, 表现为 LDH-1 占明显优势, 这种表达方式是需氧组织尤其是心脏的一种特性, LDH-1 可有效地防止在心脏中乳酸的无端产生所引起的疲劳, 同时又不妨碍对乳酸的利用^[3,4]。东方铃蟾 LDH 同工酶在脑中的表达与其它一些动物相比显示出独特性, 资料显示一些动物脑中的 LDH-1 或 LDH-3 占优势^[3,5], 东方铃蟾脑中各 LDH 同工酶, 尤其是 LDH-1 和 LDH-5 的相对含量接近, 由于东方铃蟾的水生性较强, 似乎可认为一定水平的 LDH-1/LDH-5 比值对满足东方铃蟾脑等组织在低氧状态下的能量需要而不至出现乳酸的大量积累有其意义。

Markert 等人^[3,4,5]发现随着个体的发育, 某些组织发生 LDH 同工酶谱型的转换。我们对东方铃蟾几个典型发育阶段不同组织 LDH 同

工酶的测定表明: 东方铃蟾至少从鳃盖期开始心、骨骼肌、肝组织的 LDH 同工酶谱型已定型, 在以后的个体发育中不发生谱型的转换。心脏的 LDH 同工酶相对含量几乎不随个体的发育而变化。骨骼肌、肝脏中 LDH 同工酶的表达与其它动物相似^[3,4,5], 在个体发育过程中, LDH-5 的优势一直被保持, 并且从尾退化期发育至成体的过程中, 这种 LDH-5 的优势被大大加强。尾退化期以前发育阶段的骨骼肌、肝脏中 LDH 同工酶相对含量基本稳定。东方铃蟾脑中 LDH 同工酶相对含量在个体发育过程中变化不是很大, 但从鳃盖期至尾退化期 LDH 同工酶谱型发生转换, 鳃盖期 LDH-5 略

占优势, 尾退化期以后 LDH-1 则略占优势。东方铃蟾脑中 LDH 同工酶表达的形式及其个体发育的特殊性的意义有待于进一步研究。

参 考 文 献

- [1] 吴鹤龄等 1982 乳酸脱氢酶 (LDH) 同工酶在小白鼠胚胎发育过程中的变化 遗传 4(2): 22—24。
- [2] 张龙翔等 1981 生化实验方法和技术 94—111 高等教育出版社。
- [3] 赖德、C. C. 等 1987 同工酶 48—58 科学出版社。
- [4] Markert C.L. et al. 1962 The Ontogeny of Isozyme Patterns of Lactate Dehydrogenase in the Mouse. *Develop. Biol.* 5:363—381.
- [5] ————1975 Evolution of a Gene *Science*. 189:102—114.

CHANGES OF ISOZYME PATTERNS OF LACTATE DEHYDROGENASE DURING THE ONTOGENY OF BOMBINA ORIENTALIS

ZHENG Yuanlin CHEN Caifa MAO Yifei

(Department of Biology, Xuzhou Teachers College, 221009)

ABSTRACT This paper reports the changes of isozyme patterns of lactate dehydrogenase (LDH) during the ontogeny of *Bombina orientalis*. This investigation clearly demonstrates specificities of LDH isozyme patterns during different ontogeny stages in different tissues. Nearly every tissue, in fact, contains all five isozymes in measurable amounts. LDH-1 is more abundant in heart; on the contrary LDH-5 predominates in skeletal muscles and liver; The amounts of LDH-1 and LDH-5 are almost equal in brain. From operculum formation stage to adult there is not any marked shift of isozyme patterns in heart, skeletal muscle and liver, the amount of LDH isozyme does not change between different development stages in heart tissues. The change of LDH isozyme amount occurs during the period of tail degeneration to adult stage in skeletal muscle and liver, i.e. LDH-5 in adult is more abundance than that in tail degeneration stage. However, the LCH isozyme patterns shift between operculum formation stage and tail degeneration stage, but the relative abundance of LDH isozyme changes in small amounts. The relative abundance of the different isozymes corresponds with the metabolic requirements of the tissues.