鱼类同工酶图谱分析中值得注意的若干情况

张子平 王艺磊 张海萌
(国家海洋局第三海洋研究所 厦门 361005) (厦门水产学院)

关键词 鱼类,同工酶,图谱分析

随着鱼类同工酶研究水平的提高,以及采用这一方法所研究的问题之不断深入拓展,象过去那样仅简单地根据电泳图谱中带的多少,带之强弱来作为遗传、分类、进化或雌雄鉴别的指标已愈来愈不适宜了。现在对同工酶电泳图谱的解析,提出了更高的要求,通常需以酶谱进一步分析基因频率。近年来,国外学者在他们的研究中已提出了几种复杂情况的同工酶谱[1,2],国内学者的同类研究尚未见报道。但在作者的研究中也已遇到类似情况,似有必要作一介绍。

运用同工酶图谱分析基因频率,就是用同工酶电泳迁移率的方法,分析决定同工酶的基因座之等位基因频率。所谓基因座,系指某一基因在染色体上的位置。(单数为 locus,复数为 loci)。就二倍体生物的每一个体而言,每一位点(即基因座)可以有两种不同的形式。一个基因的不同形式即称为等位基因。在一物种中,某一位点可以有许多等位基因。但一个二倍体生物的一个位点上,至多只有两个等位基因。一个体某一位点的基因形式如相同(即该个体之该位点的基因只存在一种形式),此个体的该位点称为纯合子,否则为杂合子。在一个种群中,如许多个体的某一位点只有一种形式,则称该种群的这个位点表现为单态,反之称多态。一个体在某一位点所具有的等位基因形式称为该个体在这一位点上的基因型。而在这个位点上观察到的基因产物特征为表型,是该基因之酶或蛋白质的表达形式。

二倍体生物同工酶图谱分析中,较常见的一位点上的二个等位基因或三个等位基因等其显性表达之单体、二聚体、三聚体或四聚体等,已有文章分析过[3,4],本文不再赘述。这里主要介绍①附加基因的表达。②同等位基因的表达。③零等位基因的表达三种复杂的谱式。

1 附加基因的表达

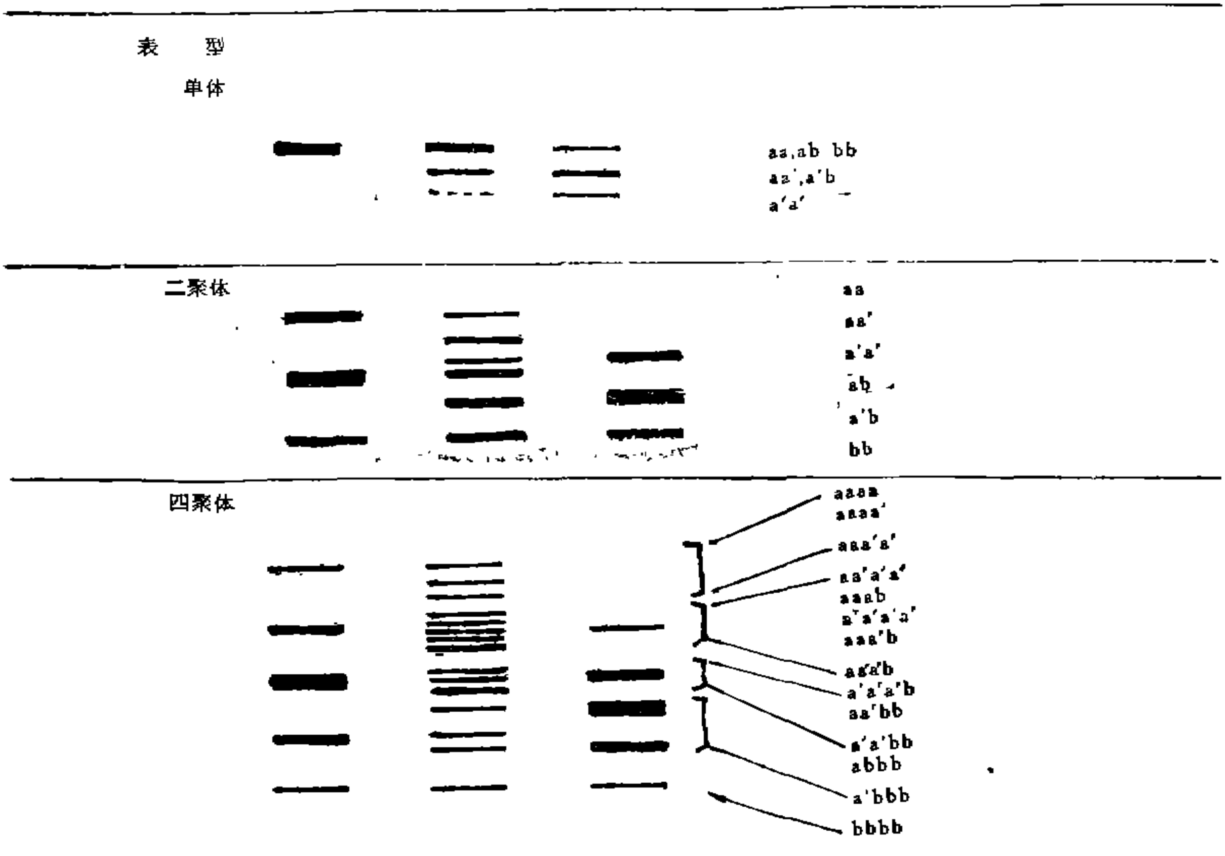
这是一种包括了许多附加蛋白带的复杂谱式,有两种情况:①由不同位点编码,具有不同迁移率的亚基,或②电泳图谱系由两个或多个位点编码的具有相同或相重迭迁移率。

假设某一同工酶由 A、B 两个位点编码,每个个体之 B 等位基因为同源(即单态位点),它编码了电泳迁移率一致的 B 亚基,(记为 b)。A 位点有两个等位基因(其表达的产物记为 a、a′ 二个亚基)。若 A、B 两个位点在相同水平表达,全部一致的 b 迁移率与 a、a′ 不相同,其电泳图谱如表 1 所示,A、B 两基因座位均为纯合子,则如 1、3 两列。

多聚体蛋白出现的附加带,系由各亚基自由组合形成的。特别是杂合子中包括了电泳上独立的亚基时则更为复杂。如为二聚体,可通过下列二项式预测: $(a + a' + 2b)^2 = a^2 + 2aa' + 4ab + 4a'b + 4b^2 + a'^2$ 共有六条带,其中三条为纯合二聚体,另三条为杂合二聚体。若为四聚体,则有 $(a + a' + 2b)^4$ 共 15 条带。但若电泳分辨率不高,则无法看到全部这些带,也

表 1　附加基因表达的情况之一

基因型	AA（纯合子）	AA'（杂合子）	A'A'（纯合子）	亚基及亚基间组合形成的蛋白带



所示基因型为两个位点表达。其中 A 位点为多态，有 A 及 A' 两个等位基因，分别编码 a 及 a' 亚基；B 位点为单态，编码电泳迁移率与 a、a' 不同的 b 亚基。A 为等位基因 100，A' 为等位基因 75。

就不可能对电泳图作出正确解析。

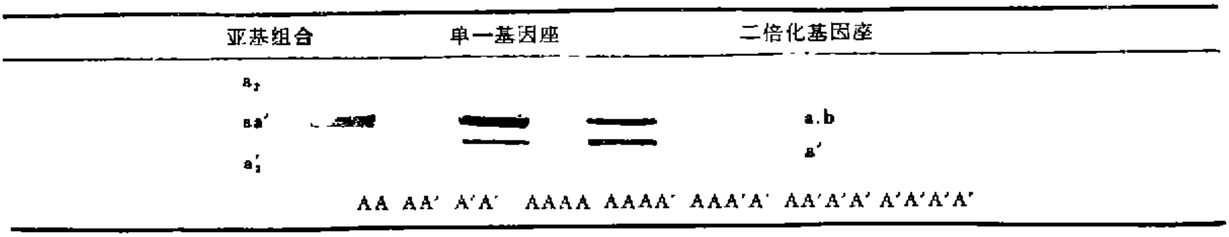
第②种情况在鲑鳟鱼类中较为常见。因为鲑鱼常为四倍体，较其它硬骨鱼类而言，大约有 50% 可检测出的结构基因是二倍化的[5]。表 2 比较了加倍与不加倍二聚体蛋白的情况。此时电泳表达是基于四份而不是两份基因剂量，可能的表型是五种而非三种。在这种情况下进行解析时，关键不在于带子的多少，而是带子的强弱，因为差异并不表现在多或少了一条带子，而是带之间相对强弱的变化。

此类变化有两种遗传可能性，即二倍性遗传系在两个位点或单一的四倍性位点上发生的。已证实，两个多态性二倍体位点与一个多态性四倍体位点之间的差异仅由繁育实验即可确认[6]。

若两种亚基均表达，两个多态性位点之二倍体遗传使得通过表型来解析基因型变得更加模棱两可。若表型中，亚基比例为 3:1，则说明一位点为纯合子，另一位点为杂合子。但究竟哪一位点是杂合子或纯合子则难以断定。若表型中，亚基之比为 2:2，则两个位点均为杂合子或两个位点之不同等位基因也均为纯合子。

四种鳟鱼不同组织所表达的二聚体酶——磷酸葡萄糖异构酶（PGI）之常见基因型表达的差异，是在一些有一定研究基础与相当复杂的系统中，正确辨析生化遗传差异方面的一个

表 2 附加基因表达的另一种情况



A位点表达产生二聚体蛋白，分别为单一基因座和加倍基因座表达的情况

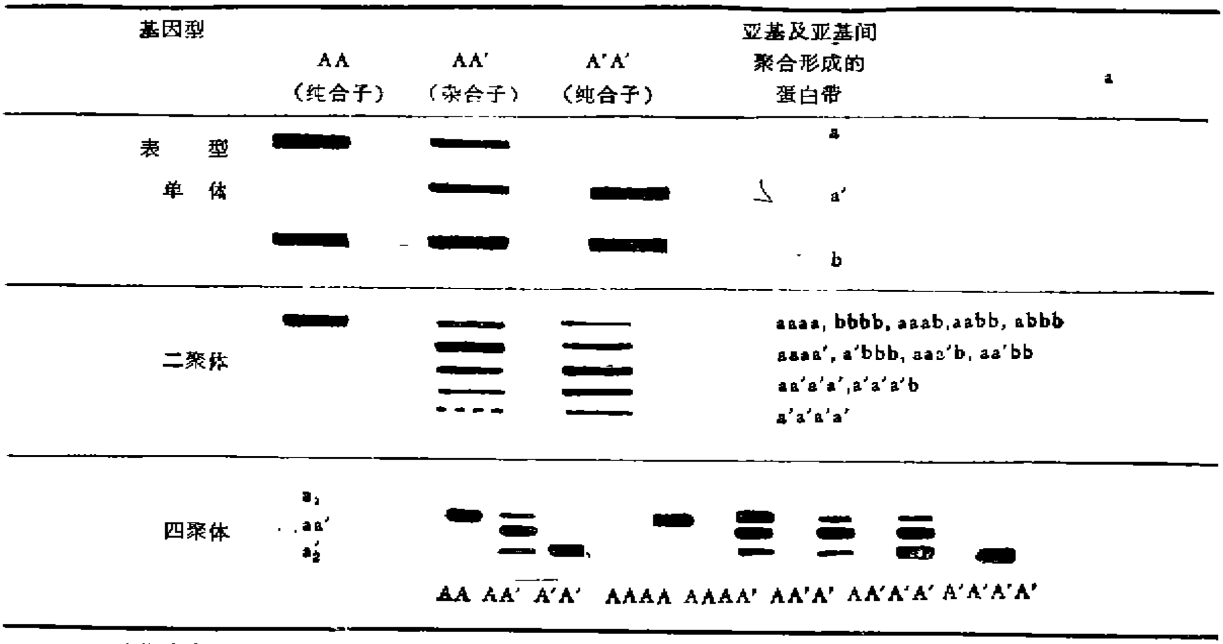
极好的例子。鳟鱼 PGI 同工酶的分子基础由 Avise 和 Kitto 通过单态基因型的观察作了判断[7]，并经 May 等经遗传变异及繁育实验加以证实[8]。四种鳟鱼眼、肌肉、心脏和肝的 PGI 基因型易被搞混。编码 PGI 的三个位点是 PGI-1、PGI-2，PGI-3。这些种的 PGI 亚基在位点间及位点内似乎是随机重组的。在各位点均以相同强度表达的骨骼肌中，常见表型均为六条带。在其它组织中，这三个 PGI 位点的表达有不同。PGI-3 在各个种的各组织中均强烈表达；在肝中仅该位点表达出清晰可见的带。PGI-1 和 PGI-2 在眼中的表达较 PGI-3 弱；在 masu salmon 的眼中 PGI-1 和 PGI-2 均不表达。除在 masu salmon 中外，心脏中的 PGI-2、PGI-3 均表达。而 masu salmon 的心脏中，PGI 表达的情况类似于骨骼肌，三个位点均表达。

2 同等位基因的表达

某些鱼类中曾观察到电泳行为一致的亚基实际上是由不同基因位点合成的。这些表达产物具有相同电泳行为的不同位点称为同等位基因[9]（isoallele）。

当两个(甚至更多个)位点编码电泳行为相同的亚基时，通常无法确定等位基因属于哪一个基因座位。表 3 所示系某一位点为多态，其它位点为单态时，同等位基因表达的情况。在

表 3 同等位位点表达的情况



一个位点多态(有 A 和 A' 两个等位基因，分别编码 a 和 a' 两个亚基；第二个位点单态，编码电泳迁移率与 a 相同的 b 亚基。

这种情况下，无法从电泳图谱上分辨 a 和 b 亚基，而且由 AA′ 和 A′A′ 基因型表达的带子数目及迁移率均相同。尽管 A′A′ 型无 a 亚基产物，但两倍剂量且与 a 亚基有相同迁移率的 b 亚基掩盖了这一缺乏。反过来，A 亚基单态，B 亚基多态，同样还是无法分辨。假如两个位点在所有组织中均表达，则无法区分哪一个位点是多态的。

同等位基因的表型常以两个位点，四个等位基因的剂量之总和来记录与分析。此法难以给出二倍体基因型每一位点的信息。若仅有一个位点是多态的，就可以方便地任意判定某一位点的变化。此类解析在取样个体间可给出二倍体基因型的信息。但若在各取样群体内不同位点是多态性的，则群体间的比较易引起误释。

若同等位基因编码的蛋白在不同组织中的合成水平不同，则易于得到同等位基因明确的基因型的信息。但迄今尚未发现这类差异。

即使已知两个同等位基因中的哪一个是多态的，也仍有相当多的困难。仍如前述，以 A′ 等位基因之杂合子或纯合子为例，这两种表型的带数是一样的，只是理论上可观察到带子强弱的差别。杂合子与 A′A′ 纯合子各条带的基因剂量之比分别为 AA′BB 是 3:1，A′A′BB 为 2:2。杂合子基因型表现为带子相对强度的非对称性分布。单体、二聚体、四聚体酶通过二项式展开预估强度比分别为 3:1，9:6:1，81:108:54:12:1。纯合子 A′A′ 基因型则有等量的可分辨的电泳产物。单体、二聚体、四聚体酶的带子相对强度比系对称分布，比率分别为 1:1，1:2:1 和 1:4:6:1（见表 3）。所表达带子数相同的情况下，理论上可借助带子强弱的差异作比较，但实际上，这类差异常常不可能测量；因为这类差异常被电泳方法的灵敏度、同等位基因的活性或同等位基因产物合成的水平所掩盖。

3 零等位基因

不活动或零等位基因，又称静寂基因，系指不编码蛋白，或所编码蛋白活性大大降低的等位基因[6]。这类等位基因的存在，是另一类不可能从电泳表型来探测其基因型的问题，使电泳数据的解析更加复杂化。

仅有单一位点表达的零等位基因纯合子可通过无任何电泳产物来查证，但实际上不存在单位点零等位基因的纯合子。只有单一位点的零等位基因杂合子的表型也难以解析。仅有的线索是单条带的强度减弱。理论上较易检测的是参与编码多聚体蛋白的零等位基因杂合子，零等位基因编码的亚基与编码同一蛋白的另一位点编码的亚基形成多聚体。由于零等位基因使合成的亚基减少，故多条带强度降低，为基因型的确认提供了更为直观的线索。不过，仅靠目测是不够的，还必须测定谱带的强弱或蛋白活性来确定活性的降低。多位点表达时的另一复杂情况是，零等位基因与另一编码相同酶活力和相同迁移率的基因位点之间也是不可能分辨的。在这类情况下，杂合子的基因剂量也不是一个直观的标准，因为活性基因杂合子（亚基间的聚合体以 3:1 分配）与零等位基因（亚基比为 2:1）杂合子难以鉴别。零等位基因在研究同工酶时必须考虑到，否则若将零等位基因的杂合子辨认作活性等位基因的纯合子，会导致对基因频率的错误估计和低估了杂合子数。

参 考 文 献

1 Allendorf, F.W. and F.M. Utter. Population genetics. In: Fish Physiology, Vol.8, ed. W.S.Hoar, D.J. Randall, and J.R. Brett (Academic Press,New York), 1979.407—454.

2 F. Utter, P. Aebersold and G. Winans. Interpreting Genetic Variation Detected By Electrophoresis. In: Population Genetics and Fishery Management, ed. N. Ryman and F. Utter, (University of Washington Press), 1987. 21—45.

3 吴力钊，王祖熊。长江鲢、鳙、草鱼同工酶基因座的多态性及种群遗传结构。引自《长江、珠江、黑龙江鲢、鳙、草鱼种质资源研究》，李思发等编著（上海科学技术出版社出版），1990。71—82。

4 熊全沫。同工酶电泳数据的应用及其在种群遗传上的应用。遗传，1986,8(1): 1—5

5 Allendorf, F.W. and G.H. Thorgaard. Tetraploidy and the evolution of salmonid fish In:Evolutionary Genetics of Fishes, ed. B. Turner (Plenum Press, New York), 1984. 1—53.

6 Allendorf, F.W. and F.M. Utter, May, B.P.

（下转第37页）

（上接第52页）

Gene duplication within the family Salmonidae. II. Detection and the examination of populations. In: Isozymes, Vol. 4, Genetics and Evolution, ed. C.L. Markert. (Academic Press, New York). 1975, 415—432.

7 Avise, J.C. and Kitto, G. B. Phosphoglucose isomerase gene duplication in the bony fishes: An evolotionary history. *Biochem. Genet.* 1973, 8:113—132.

8 May, B., F.M. Utter and F.W. Allendorf, Biochemical genetic variation in pink and chum salmon: Inheritance of intraspecies variation and apparent absence of interspecies *introgression following* massive hybridization of hatchery stocks. *J.Hered.* 1975, **66**: 227—232.

9 Wright, J., K. Johnson, A. Hollister, and B. May, Meiotic models to explain classical linkage, pseudolinkage and chromosome pairing in tetraploid derivative salmonids. In: Isozymes: Current Topics in Biological and Medical Research, Vol. 10, ed. M. Rattazzi, J. Scandalios, and G. Whitt (Alan R. Liss, New York), 1983, 239—260.