

# 二狼山白绒山羊 $\alpha$ -E<sub>s</sub> 同工酶的研究

许玉德 魏俊

(厦门大学生物学系)

杨国珍 吕荣 高文厚 段来明 巴图干查 额尔恒

(内蒙乌拉特后旗科委)

**摘要** 采用聚丙烯酰胺凝胶电泳方法分离二狼山白绒山羊血清  $\alpha$ -E<sub>s</sub> 同工酶, 并对其进行理化特性分析。研究表明, 二狼山白绒山羊  $\alpha$ -E<sub>s</sub> 同工酶可分离出 9 条电泳区带, 各区带的电泳迁移率基本一致而出现频率及相对百分含量则存在个体差异。理化测定分析显示,  $\alpha$ -E<sub>s</sub> 同工酶在中性至微碱性环境条件下均能显现出清晰的谱带, 作用 PH 区限较宽。各同工酶对温度的稳定性表现不同, 其中 E<sub>s</sub>-1、E<sub>s</sub>-2、E<sub>s</sub>-3 和 E<sub>s</sub>-9 的热稳定性最高, 而 E<sub>s</sub>-6 和 E<sub>s</sub>-7 则最差。在雄性个体中, E<sub>s</sub>-9 有 1 条亚带。

**关键词** 二狼山白绒山羊  $\alpha$ -E<sub>s</sub> 同工酶

同工酶指的是能催化同一种化学反应, 但其酶蛋白本身的分子结构组成却有所不同的一组酶<sup>[1]</sup>。它是由染色体上不同的基因座位编码的生化表现型, 具有可靠的生理特性和物种遗传性。现在, 同工酶的研究已经成为动物种属特性鉴定的一种重要生化手段。在研究二狼山白绒山羊的种质特性和绒肉兼用性状的定向培育中进行  $\alpha$ -酯酶 ( $\alpha$ -E<sub>s</sub>) 同工酶测定, 可以从“基因—酶—性状”的关系来了解动物的发生、发育与遗传进化, 不仅对动物体内的脂类代谢的研究具有重要意义, 而且可在绒山羊的培育中对所需遗传标记物的探索提供有益的科学资料。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

实验动物为二狼山白绒山羊, 由内蒙古自治区巴彦淖尔盟家畜改良工作站提供。采样羊只随机选择, 健康无疾, 年龄在 2~4 岁之间。共 60 只。

### 1.2 血清的分离

供血羊只经禁食 12 小时后, 按无菌操作规程从其颈静脉抽取血液 20ml, 室温静置 6~12 小时离心 3500r/min, 15min, 分离得色泽澄明

的血清 (剔除溶血样本), 编号, 置 4℃ 冰箱保存。此项工作在采血现场完成。

### 1.3 电泳

采用聚丙烯酰胺凝胶电泳, 凝胶浓度 (T) 7%, 交联度 (C) 3%, 电泳胶管规格为 0.6×10cm, 电极液为 Tris - Gly 缓冲系统 (pH8.3) 离子强度为 0.05mol/l, 加样量为 20 $\mu$ l/管, 电流强度 3.5mA/管, 电压 220~240V, 通电时间约 3 小时。

### 1.4 酶谱处理

电泳结束后, 剥取凝胶柱, 用无离子水冲洗, 然后分别作如下处理:

a.  $\alpha$ -E<sub>s</sub> 同工酶显色: 把凝胶柱投入  $\alpha$ -E<sub>s</sub> 同工酶染色液中, 置 31℃ 温箱保温 60min, 直至酶带出现, 再用 7% 醋酸固定液终止酶促反应。

b.  $\alpha$ -E<sub>s</sub> 同工酶理化性质测试: 凝胶柱进行 a 项处理之前, 分别作下述预处理, 第 1 组按 50℃、55℃、60℃、70℃、75℃ 等 6 个温度梯度做热变性实验; 第 2 组按 pH4.5、5.5、6.5、7.5、8.5、9.5 等 6 个梯度做作 pH 区限实验。各组样品处理时间均为 5min。

### 1.5 酶谱分析

每个电泳图谱均采用厦门大学测试中心的 Beckman DU-8B Spectrophotometer 扫描 (波长 500nm, 测速 5cm/min)。根据扫描图谱, 求得各同工酶的相对百分含量。

试样各电泳区带的相对迁移率( $R_f$ )按常规方法测算。

## 2 实验结果

表 1 二狼山白绒山羊血清  $\alpha$ -E<sub>s</sub> 同工酶的电泳迁移率及出现频率

		E <sub>s</sub> -1	E <sub>s</sub> -2	E <sub>s</sub> -3	E <sub>s</sub> -4	E <sub>s</sub> -5	E <sub>s</sub> -6	E <sub>s</sub> -7	E <sub>s</sub> -8	E <sub>s</sub> -9
♂	1	100	83.3	100	66.7	66.7	50.0	100	33.2	100
	2	0.908±0.027	0.524±0.021	0.470±0.019	0.401±0.004	0.304±0.007	0.261±0.009	0.214±0.007	0.114±0.002	0.052±0.002
♀	1	100	66.7	58.4	100	100	100	100	83.3	100
	2	0.892±0.019	0.554±0.026	0.478±0.017	0.435±0.007	0.309±0.013	0.263±0.010	0.203±0.012	0.135±0.011	0.048±0.004
$\bar{X}$	1	100	75.0	79.4	66.7	83.3	72.2	100	66.7	100
	2	0.900±0.023	0.539±0.024	0.474±0.018	0.418±0.006	0.307±0.010	0.262±0.010	0.209±0.010	0.125±0.006	0.050±0.003

\* 1~出现频率 (%) 2~电泳迁移率 ( $\bar{X} \pm S$ )

如表 1 所示, 根据各电泳区带的电泳迁移率分布情况, 二狼山白绒山羊血清  $\alpha$ -E<sub>s</sub> 同工酶共可检出 9 条区带, 各区带的电泳迁移率大致相近。E<sub>s</sub>-1、E<sub>s</sub>-7 和 E<sub>s</sub>-9 的出现频率最高, 在被检样本中无一不现, 其次是 E<sub>s</sub>-3、E<sub>s</sub>-4、E<sub>s</sub>-5、E<sub>s</sub>-6 和 E<sub>s</sub>-7, 或在被检的雌性或在被检的雄性个体中全部出现, 最少的是 E<sub>s</sub>-8, 在雄性个体中仅有 33% 的出现频率。

在二狼山白绒山羊雄性个体中, E<sub>s</sub>-9 有 1 条亚带出现, 而雌性个体则缺如, 这是雌雄性别间的一个显著的不同。

### 2.2 $\alpha$ -E<sub>s</sub> 同工酶的活性比较

根据  $\alpha$ -E<sub>s</sub> 同工酶扫描图谱 (图 1), 测算各同工酶的相对百分含量, 结果见表 2。

### 2.1 $\alpha$ -E<sub>s</sub> 同工酶区带分离

经聚丙烯酰胺凝胶电泳, 二狼山白绒山羊血清  $\alpha$ -E<sub>s</sub> 同工酶最少能分离出 5 条电泳区带, 最多达 9 条区带, 多数可以分离出 7~8 条区带。

各电泳区带的电泳迁移率及出现频率, 统计于表 1

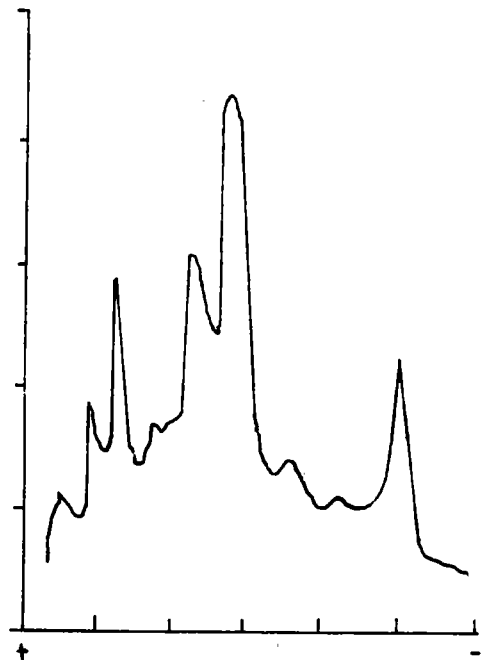


图 1 二狼山山羊血清  $\alpha$ -E<sub>s</sub> 同工酶扫描图

表 2 二狼山白绒山羊血清  $\alpha$ -E<sub>s</sub> 同工酶相对百分含量 (%)

	E <sub>s</sub> -1	E <sub>s</sub> -2	E <sub>s</sub> -3	E <sub>s</sub> -4	E <sub>s</sub> -5	E <sub>s</sub> -6	E <sub>s</sub> -7	E <sub>s</sub> -8	E <sub>s</sub> -9
♂	19.35±3.22	24.87±6.34	20.54±2.93	1.39±1.01	2.61±1.15	6.40±1.90	14.90±4.44	6.24±1.51	3.70±0.98
♀	10.76±5.56	11.49±7.25	7.85±4.22	22.97±11.18	2.93±1.93	16.46±8.01	13.70±6.88	9.80±7.49	4.04±2.78
$\bar{X}$	15.05±4.89	18.18±6.80	14.20±8.58	12.18±11.26	2.77±1.54	11.43±8.50	14.30±3.66	8.02±4.50	3.87±1.88

从表 2 可以看出,二狼山白绒山羊血清  $\alpha$ -E<sub>s</sub> 同工酶在电泳正极端占有较大优势,各同工酶的相对百分含量在雌雄性别间存在程度不同的差异,除 E<sub>s</sub>-5、E<sub>s</sub>-7、E<sub>s</sub>-8、和 E<sub>s</sub>-9 的差异不显著 ( $P>0.05$ ) 外, E<sub>s</sub>-1、E<sub>s</sub>-2、E<sub>s</sub>-3 表现为 ♂ $>$ ♀ 而 E<sub>s</sub>-4 和 E<sub>s</sub>-6 表现为 ♂ $<$ ♀,其差异均达到极显著的水准 ( $P<0.01$ )。

2.3 血清  $\alpha$ -E<sub>s</sub> 同工酶的理化特性  
各同工酶的热变性实验和作用 pH 区限实验结果见表 3。

表 3 二狼山白绒山羊血清  $\alpha$ -E<sub>s</sub> 同工酶的理化特性检测

		E <sub>s</sub> -1	E <sub>s</sub> -2	E <sub>s</sub> -3	E <sub>s</sub> -4	E <sub>s</sub> -5	E <sub>s</sub> -6	E <sub>s</sub> -7	E <sub>s</sub> -8	E <sub>s</sub> -9
热变性实验 (℃, 5min)	50	++	++	++	++	++	±	+	+	++
	55	++	++	+	+	+	-	-	+	+
	60	++	++	-	+	-	-	-	+	+
	65	++	+	-	+	-	-	-	-	+
	70	++	+	-	+	-	-	-	-	+
	75	+	+	-	+	-	-	-	-	+
酸硷处理 (pH 5min)	4.5	+	+	-	-	+	-	+	-	+
	5.5	+	+	-	-	+	-	-	+	+
	6.5	+	+	-	+	+	+	-	+	+
	7.5	++	++	+	++	++	++	+	++	++
	8.5	++	+	+	++	+	+	+	+	++
	9.5	+	+	+	++	+	-	+	-	+

+——酶带显现 -酶带消失

表 3 显示二狼山白绒山羊  $\alpha$ -E<sub>s</sub> 同工酶有较宽的作用 pH 区限,各酶均有各自的显色 pH 区域。其中, E<sub>s</sub>-1、E<sub>s</sub>-2、E<sub>s</sub>-5 和 E<sub>s</sub>-9 的作用 pH 区限最宽,在 pH4.5~9.5 范围内均能显现; E<sub>s</sub>-7 在酸性 (pH4.5) 和碱性 (pH7.5~9.5) 环境中活性较强而在微酸环境中竟无活性; E<sub>s</sub>-3 和 E<sub>s</sub>-4 在碱性环境中有较强的活力; E<sub>s</sub>-6 和 E<sub>s</sub>-8 在酸性或碱性环境条件下都失活,中性环境为其最适条件。总的看来,在中性至微碱性 (pH7.5~8.5) 条件下,  $\alpha$ -E<sub>s</sub> 同工酶活性表现良好, pH7.5 为各同工酶的最适 pH。

二狼山白绒山羊血清  $\alpha$ -E<sub>s</sub> 同工酶各电泳区带对热变性的稳定程度随环境温度的超常升高而发生不同的变化,以 E<sub>s</sub>-1、E<sub>s</sub>-2、E<sub>s</sub>-5 和 E<sub>s</sub>-9 的热稳定性最高,短时间 (5min) 的高温 (75℃) 处理仍保持酶活性,其次是 E<sub>s</sub>-8,而后是 E<sub>s</sub>-3 和 E<sub>s</sub>-5,最差的是 E<sub>s</sub>-6 和 E<sub>s</sub>-7,在 55℃ 经 5min 处理后即失活了。

质上的差异。已有的研究资料表明,  $\alpha$ -E<sub>s</sub> 分子的构成形式多种多样,遗传特性较为复杂,不同动物有着显著的种属特异性<sup>[3,4]</sup>。本研究发现二狼山白绒山羊血清  $\alpha$ -E<sub>s</sub> 同工酶分子的存在形式较为复杂多样,经聚丙烯酰胺凝胶电泳,最多可分离出 9 条区带,最少有 5 条区带,60% 试样显有 7 条至 8 条酶带。各同工酶电泳区带的电泳迁移率基本一致,但其出现频率及相对百分含量存在着程度不同的个体差异。为什么出现这些差异? 这是在二狼山白绒山羊定向培育中必须认真思考的问题。我们曾经认为,白绒山羊是一个古老的绒肉兼用型优良地方品种,经过长期的自然选择和定向培育,种群的外貌特征和遗传结构较为稳定。因此在育种生产实践中仅把绒、肉品质和产量等经济性状的个体差异归因于外界环境条件和后天因素的制约,而忽视了这些受基因控制的生化标记物所产生的决定性作用。显然,这是必须注意的,同工酶的差异,反映了基因型的不同。

### 3 讨论

$\alpha$ -E<sub>s</sub> 同工酶是由染色体上不同的基因或共显性等位基因控制的<sup>[2]</sup>,它在各种生物中广泛存在,不同种动物同工酶的差异是遗传本

$\alpha$ -E<sub>s</sub> 同工酶是以  $\alpha$ -乙酸萘酯为底物的同工酶,属羧基酯水解酶系。它催化羧基酯类的酯键水解与合成,在动物体脂代谢和生物膜的结构及功能方面发挥重要的作用<sup>[5]</sup>。由于

# 生猪涨价 货源趋紧

据国内贸易部主管部门综合各地生猪产销信息表明：当前产区肉源减少，库存薄弱，猪价上涨；一些销区肉价上扬，市场日渐吃紧。

据了解，由于粮价上涨，饲料价格涨幅过大，部分产区生猪生产下降。目前，猪粮比价为1:4左右，而上年同期为1:6左右。据12个生猪主产省调查，5月末生猪存栏比去年同期有所下降。尤其母猪、仔猪下降幅度更大，造成部分生猪产区猪价上涨。全国产猪最大的四川省今年上半年猪价居高不下，比上年同期上涨15%~20%，进入三季度后，猪价又上一个台阶，肉联厂进厂毛猪每500克达1.8~1.9元。肉联厂冻肉调拨价近一个月每吨上涨200~300元，有些地区产地冻肉交货价每吨高达

5000元左右。

目前，产区猪价上涨未完全在销区市场反映出来，猪肉市场基本稳定。其原因是近期正值猪肉销售淡季；销区生产基地发展；各种副食品较丰富，消费选择性大。因此，猪肉销价涨幅低于购价涨幅。行家认为年底前后，消费将转旺，生猪购价，冻肉调拨价，猪肉销价将呈同步上涨趋势，局部地区市场供应可能偏紧。猪肉乃是我国城乡人民的重要消费品，国有商业应该密切注视产销动态，把握时机，增加库存，调节市场，并完成好政府部门赋予的宏观调控任务。

(摘自《养猪信息报》)

同工酶分子的一级结构和理化性质不同，因而能在微环境发生一定程度变化时仍然保持良好的活性。实验表明，二狼山白绒山羊血清 $\alpha$ -E<sub>s</sub>各同工酶的热稳定性各不相同，其中E<sub>s</sub>-1、E<sub>s</sub>-2、E<sub>s</sub>-4和E<sub>s</sub>-9经5min的高温(75℃)处理仍有活性，其余各同工酶亦都能经受短时间的超常温(55℃~65℃)处理。同时我们还发现， $\alpha$ -E<sub>s</sub>同工酶有较宽的作用pH区限，各同工酶均有其最适的pH作用区域，它们中有的适于酸性条件，有的适于碱性条件，有的甚至在pH4.5至pH9.5的条件下都保持有良好活性，只在碱性环境中各同工酶才全部显现出活性。 $\alpha$ -E<sub>s</sub>同工酶的这种理化特性是与该羊所处的生态环境相适应的。二狼山白绒山羊生活在内蒙古西北部的山区、丘陵和高海拔平原区域，昼夜温差大，草场植被差异大，食物种类繁多。长期生存在这一瞬时即变的环境下的二狼山白绒山羊的 $\alpha$ -E<sub>s</sub>同工酶所具有的上述理化特性提高了它对荒漠生态环境的适应能力。

二狼山白绒山羊 $\alpha$ -E<sub>s</sub>同工酶在雌雄性

别间的显著差异可在某些同工酶的相对百分含量上观察到，如E<sub>s</sub>-1、E<sub>s</sub>-2和E<sub>s</sub>-3的百分含量为♂>♀而E<sub>s</sub>-4和E<sub>s</sub>-6为♂<♀。除此以外，最为突出的差异是所有雄性个体的E<sub>s</sub>-9都出现1条雌性个体缺如的亚带，表明二狼山白绒山羊 $\alpha$ -E<sub>s</sub>同工酶存在遗传多态性现象，关于这种多态性现象的成因将另文予以讨论。

## 参考文献

- (1) 沈同等：《生物化学》，北京：高等教育出版社，1993，317。
- (2) 熊全沫：同工酶电泳数据的分析及其在种群遗传上的应用，《遗传》1986，8(1)：1~5
- (3) Markert C. L. et al: The distribution of esterases in mouse tissues, J. Histochem cytochem, 1959, 7: 40-49
- (4) Peter J. C.: Nonspecific esterases of Musculus, Biochem. Genet. 1982, 20: 585-606.
- (5) 王爱民等：新疆北部两种兔尾鼠乳酸脱氢酶和酯酶同工酶的比较研究，《新疆大学学报(自然科学版)》，1991，8(4)：89~94。