

稀土对鸡组织同工酶谱影响^{*}

III. 饲料中稀土对鸡体6种组织淀粉酶同工酶谱的影响

雷衡毅 苏应娟 龚孟濂 李 丹 杨燕生

(中山大学化学系 生物化学系, 广州 510275)

摘 要 通过检测分析喂养2个月后家鸡中6种组织的淀粉酶同工酶谱变化与鸡饲料中不同含量 Ce^{3+} , Tb^{3+} 之间的相关性, 发现不同浓度稀土对鸡的心、肝、肾、骨髓、肌肉及血清中淀粉酶同工酶谱有不同程度的影响, 其中, 肝、肌肉、骨髓中淀粉酶同工酶谱有明显的谱带数变化, 血清、肾脏、心脏中只是酶带强弱的变化, 说明微量稀土对生物体有明显的“超钙”作用。

关键词 稀土, 家鸡, 淀粉酶, “超钙”作用

分类号 Q 504

随着稀土不断进入我们的生活中, 稀土的生物效应及其对人类的安全性已是稀土专家们正在开展研究的热门课题^[1]. 有关稀土离子与酶的作用已有一些报道^[2], 但稀土饲料对动物活体各组织的淀粉酶同工酶谱影响的研究尚未见报道。

人和动物的淀粉酶是能特异地水解多糖分子内——1, 4糖苷键, 使之生成寡聚糖、麦芽糖及葡萄糖的聚糖内切酶. 各淀粉酶同工酶的特定基因位于第一对染色体上, 其化学本质是糖蛋白. 淀粉酶同工酶谱对人和动物的许多疾病有较灵敏的溶断性作用^[3]. 同时, 由于稀土离子与钙离子有许多相近的理化性质, 而钙离子含量对淀粉酶的活性有激活、稳定及抑制作用. 因此, 研究淀粉酶同工酶谱既具有探索稀土进入动物体内的生物效应的诊断意义, 又可以通过淀粉酶活性分析稀土的“超钙”作用及体内稀土离子通道^[4]等稀土作用机理问题。

本文通过鸡体内6种组织的淀粉酶同工酶谱变化及其饲料中稀土含量的相关性实验数据对比分析, 初次探讨了稀土对鸡体淀粉酶同工酶谱影响及稀土在肝脏、骨髓等组织中的“超钙”现象。

1 材料与方法

1.1 稀土饲料制备 见文献 [5].

1.2 动物饲养 见文献 [6].

1.3 溶液酶提取 将饲养2个月的4组家鸡断颈活杀, 分别取心、肝、肾、胸肌、大腿骨髓, 用冷生理盐水冲去表面血污, 用液氮冷冻后, 以每g组织加入6 mL 5%的葡萄糖生理水(加1‰溴酚兰作指示剂), 匀浆后在12 000 r/min下离心(15 min×2), 所得上清液为鸡组

^{*} 国家自然科学基金(29671034)和广东省自然科学基金(960048)资助项目

收稿日期: 1997-03-06 雷衡毅, 男, 39岁, 副教授

织的酶提取液。

将收集的鸡血于 35°C 保温 15 min, 待血清充分渗出后, 在 $4\ 000\ \text{r}/\text{min}$ 下离心 10 min, 取上层清液为酶提取液。

1.4 电泳及染色 将 6 种组织的酶提取液分别在 $(3 \pm 1)^{\circ}\text{C}$ 恒温下, 进行淀粉酶的聚丙烯酰胺凝胶圆盘电泳分离, 电泳槽下端为正极, $\text{pH} = 8.3$, 电泳 4 h 后, 用 1% 可溶性淀粉浸泡 1 h, 用 $\text{pH} = 5.0$ 的醋酸缓冲溶液冲洗, 再用缓冲溶液恒温浸泡, 同时加入适量的 1% 的碘溶液, 摇匀, 避光静置染色。

2 结果与讨论

2.1 稀土含量对鸡体重的影响 见文献 [6]。

2.2 稀土对鸡体内淀粉酶同工酶谱影响 从鸡的 6 种组织中淀粉酶同工酶谱 (图 1) 可见, 不同浓度稀土的饲料对各组织的淀粉酶谱有不同程度的影响。与空白对照组相比, $100\ \mu\text{g}/\text{g}$ 量的稀土已使肝、骨髓中淀粉酶同工酶谱在谱带数目有明显变化, $300\ \mu\text{g}/\text{g}$ 含量稀土使肌肉中淀粉酶同工酶谱的谱带数有明显变化; 但即使是 $1\ 000\ \mu\text{g}/\text{g}$ 含量稀土对心、肾、血清组织的淀粉酶同工酶谱只表现为各谱带酶活性强弱变化。这些实验结果表明: 饲料中稀土导致肝和骨髓中淀粉酶同工酶谱变化最为明显。这与轻稀土组离子在肝中分布质量最大和重稀土组离子在骨中分布量最大有直接关系。

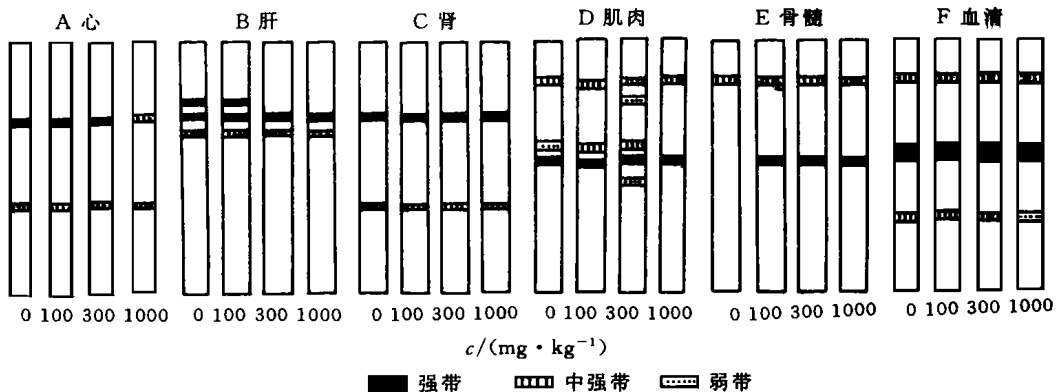


图 1 稀土导致鸡各组织中淀粉酶同工酶的酶谱变化

Fig. 1 Rare earths induced pattern change of AMY isozymes in chicken tissues

在正常情况下肝中的钙是通过钙泵调节肝细胞内外钙离子浓度, 由于钙离子与稀土离子的理化性质相似, 当稀土离子浓度增加时, 可视胞外钙离子含量增加, 即胞内外钙离子浓度平衡被破坏, 此时钙泵将使胞内外钙离子浓度向恢复原来平衡的方向移动, 这便可能使部分取代钙的稀土离子① 直接作用受钙离子影响的酶的活性; ② 通过钙泵进入细胞内, 作用于胞内受钙离子影响的酶的活性, 甚至通过作用于 CaMP 等第 2 信使, 而间接影响调控基因等。从肝组织淀粉酶同工酶谱来看, 稀土对肝中淀粉酶同工酶的第 1 条带具有激活的超钙作用, 这点与稀土浓度使鸡体质量增加趋向是一致的。

骨是钙的主要分布区, 当稀土离子不断达到骨细胞同时, 一方面稀土离子对骨中羟基磷酸的结合力比钙离子要大, 这将导致稀土离子不断地在骨中累积; 另一方面随稀土离子

浓度增加,可激活或抑制 Ca^{2+} , Mg^{2+} /ATPase等金属酶的活性^[6]. 因此稀土离子浓度对动物骨骼的生长发育将具有重要的生物效应. 从酶谱来看,小于 $1\ 000\ \mu\text{g/g}$ 范围的稀土离子对骨髓中淀粉酶同工酶的第 2 条带作用是单向激活的,而对第 1 条带则是单向抑制的.

同时,肌肉、血清、肾及心脏组织中淀粉酶同工酶第 1 条带的活性变化随稀土浓度增加,均有一个激活→抑制过程,这与稀土离子限度对体重增加的变化趋向相一致. 说明稀土确实对酶活性有激活→抑制的作用.

本实验表明,同工酶酶谱对稀土生物效应研究是一个灵敏的方法. 由于分别进行鸡组织中同工酶谱分析以及稀土对酶系统作用是个多因素难题,目前尚未有这方面的系统性报导,故淀粉酶同工酶谱变化对稀土的重要性诊断及系统的酶作用机理尚需要进一步研究. 我们正努力结合其它相关性同工酶酶谱及其基因技术分析(如随机扩增多态性 DNA 技术(RAPD)等)来深入探索稀土的生物效应.

参 考 文 献

- 1 倪嘉瓚主编. 稀土生物无机化学. 北京: 科学出版社, 1995
- 2 李新民,倪嘉瓚,王平原,等. 稀土对肌质网 Ca-ATP 酶活性影响. 生物化学杂志, 1995(11): 281
- 3 王坤主编. 实用诊断酶学. 北京: 科学技术文献出版社, 1989
- 4 刘安西,陈收同编译. 细胞膜离子通道. 北京: 中央民族学院出版社, 1990
- 5 王艇,苏应娟,雷衡毅,等. Ce^{3+} 和 Tb^{3+} 对鸡体内四种同工酶酶谱的影响. 中山大学学报(自然科学版), 1996, 35(增刊): 182
- 6 李丹,雷衡毅,龚孟谦,等. 稀土对家鸡六种组织中脂酶酶谱的影响. 中山大学学报(自然科学版), 1997(1): 36

Effect of Rare Earths on Isozymes in Chicken Tissues

III. Effects of Rare Earths on AMY Isozymes in Six Tissues of Chicken

Lei Hengyi* Su Yingjuan Gong Menglian Li Dan Yang Yangsheng

Abstract This article reported the effect of feed containing rare earths on AMY isozymes in 6 tissues of chicken for 2 months. The results showed that the effect of rare earths in 6 tissues are different. AMY isozyme patterns in marrow and muscle are more remarkably changed than those of the other tissues in range of $100\sim 300\ \mu\text{g/g}$ ER(NO)₃. The results also imply that biological effects of rare earths on living body is very obvious and sensitive.

Keywords rare earths, chicken, AMY isozyme

* Department of Chemistry, Zhongshan University, Guangzhou 510275