

稀土对家鸡组织中酯酶同工酶酶谱的影响^{*}

李 丹 雷衡毅 龚孟濂 王 艇 杨燕生

(中山大学化学与化工学院 生命科学院, 广州 510275)

摘 要 应用聚丙烯酰胺凝胶电泳法测定了用含不同浓度稀土饲料喂养 2 月后的家鸡心、肝、肾、骨髓肌肉和血清 6 种组织中酯酶同工酶酶谱。结果显示摄入稀土后各个组织中的酯酶同工酶酶谱均发生了不同程度的改变。其中心和骨髓中酯酶受稀土影响最大, 而血清和肾脏受影响较小。同时也表明同工酶是检测生物体发生生理、生化变化的灵敏指标。

关键词 稀土, 家鸡, 酯酶, 同工酶

分类号 S 852. 2

随着稀土越来越广泛地应用到农业和畜牧业中, 人们越来越关心稀土对生物体的健康影响。由于同工酶是研究生物体代谢调节、分子遗传、个体发育、细胞分化和癌变等的有力工具^[1], 为进一步了解稀土对活体的生物效应, 采用聚丙烯酰胺凝胶电泳 (PAGE) 法研究了稀土离子 Ce^{3+} , Tb^{3+} 对家鸡心、肝、肾、骨骼肌、骨髓血清等 6 种组织中酯酶 (EST) 同工酶酶谱的影响。

1 实验部分

1.1 稀土处理与饲料制备 稀土氧化物 CeO_2 和 Tb_4O_7 购自珠江冶炼厂, 纯度不低于 99.95%。将 CeO_2 用浓 HCl 和盐酸羟胺加热溶解, 加入氨水至稍过量生成浅黄色沉淀, 加热除去过量的氨, 调节 pH 至 8.0, 热水洗涤沉淀 2 次, 抽滤, 加入 1:1 HNO_3 溶解沉淀, 控制 pH 为 5.0, 得到 $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3$ 溶液。以 0.5% 二甲酚橙为指示剂, 用 EDTA 标准溶液滴定法^[2], 标定 $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3$ 溶液浓度。 $\text{Tb}(\text{NO}_3)_3$ 的制备与标定方法同前, 只是在用于 HCl 溶解 Tb_4O_7 时不需加入盐酸羟胺。

将标定浓度后的 $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3$ 和 $\text{Tb}(\text{NO}_3)_3$ 溶液按一定比例混合, 得到储备母液。其中 $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3$ 为 $5.45 \times 10^{-2} \text{ mol/L}$, $\text{Tb}(\text{NO}_3)_3$ 为 $4.55 \times 10^{-2} \text{ mol/L}$ 。

将储备母液按一定重量比拌入家鸡日粮 (小麦和高粱各 50%), 制得含稀土的饲料。

1.2 实验动物及分组 将 40 只雄性同日龄鸡 (购自广东省实验动物场) 随机平均分为 4 组, 其中 1 组为对照组, 饲料中不含稀土; 另外 3 组为实验组, 日粮中稀土 $\text{RE}(\text{NO}_3)_3$ 总含量分别为 100×10^{-6} , 300×10^{-6} , $1\,000 \times 10^{-6}$ 。

1.3 酶提取液 将分组后的家鸡饲养 2 月后活杀, 取心、肝、肾、骨骼肌和骨髓 5 种组织, 用冷

^{*} 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: 1996-11-15 李丹, 男, 25 岁, 硕士

生理盐水冲去表面血污,以含 5% 葡萄糖的生理盐水为提取介质,按 1: 6(w/w)在冰浴中匀浆,然后在 12 000 r/min 下离心 30 min,取上清液作为组织酶提取液。

另外,收集鸡血于 30℃ 保温 10 min,待血清充分渗出后,于 4 000 r/min 下离心 10 min,取血清。

1.4 电泳及染色 对血清和 5 种组织酶提取液进行 PAGE 圆盘电泳,分离胶 7.2%,浓缩胶 3.6%,电极缓冲液为 Tris-甘氨酸。酶活性染色按文献 [3] 进行。

2 结果与讨论

“同工酶”是指催化相同的反应而分子结构及理化性质不同的若干种酶。“电泳法”是分离同工酶的最有力的技术之一。它借助酶分子的大小和带电性质的差异将不同酶分子分离开来,并通过特异性染色将其位置和活性直接在染色区带标志出来,从而得到“酶谱”。

实验中得到的家鸡组织酯酶同工酶酶谱如图 1 所示。

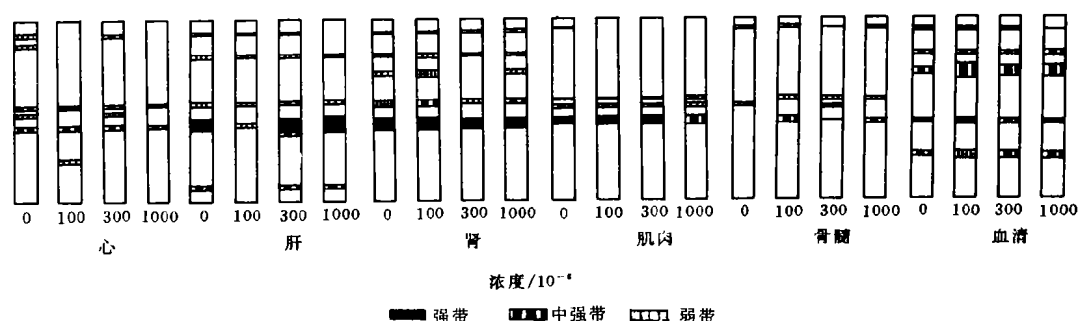


图 1 稀土导致鸡各组织中酯酶同工酶的酶谱变化

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

酯酶是催化酯类化合物水解的酶类。它催化羧酸酯类的酯键水解或合成。其中,羧酸酯酶、芳香酯酶、乙酰酯酶等的底物特异性不太强,酶分子多样性较普遍,称为“非特异性酶”。本实验中以萘乙酸酯为底物的同工酶属于羧酸酯酶类,一般为单链或二聚蛋白质。从实验结果发现,稀土对家鸡不同组织中酯酶同工酶的影响不同。心脏和骨髓受影响最大,相对于对照组 (0×10^{-6}) 而言,心和骨髓实验组的酶谱变化相当显著。而血清和肾脏的酶谱变化相对较小。此外,酶谱的变化与饲料中稀土的含量有关:稀土浓度为 100×10^{-6} 时酶谱变化最大的是心脏和肝脏, 300×10^{-6} 时变化最大的骨髓, 1000×10^{-6} 时变化最大的是肌肉。这同时也表明,同工酶是生物体内发生生理、生化变化的一个灵敏指标。我们的实验结果证明:稀土进入家鸡体内后已引起其蛋白质(酶)生物合成的改变。其机理急待进一步研究。

同工酶技术为我们研究稀土的生物效应提供了一条新的思路。深入研究稀土对动物活体内同工酶的影响机理将为稀土农用的安全性提供直接的科学依据。目前我们正结合 RAPD (随机扩增多态性 DNA) 及其他技术从 DNA 水平上对该机理进行进一步的研究。

参 考 文 献

- 1 陈惠黎,李文杰. 分子酶学. 北京: 人民卫生出版社, 1983. 368
- 2 武汉大学主编. 分析化学(第二版). 北京: 高等教育出版社, 1982. 268~ 312
- 3 胡能书,万贤国. 同工酶技术及其应用. 长沙: 湖南科学技术出版社, 1985. 96~ 104

Rare-Earths Induced Pattern Change of Esterase Isozymes in Chicken Tissues

Li Dan^{} Lei Hengyi Gong Menglian Wang Ting Yang Yansheng*

Abstract Deviation of patterns of esterase isozymes in chicken tissues induced by rare earths, Ce^{3+} and Tb^{3+} ions, were studied by PAGE method. The results indicate that different tissues are effected by rare earths in different degrees. The patterns of EST in heart and marrow were changed much more remarkably than those in kidney and blood serum. The results also imply that the isozymes are sensitive references to monitor the biological effects of rare earths on living body.

Keywords rare earths, chicken, esterase, isozyme

* School of Chemistry and Chemical Engineering, Zhongshan University, Guangzhou 510275