

Ce³⁺ 和 Tb³⁺ 对鸡体内四种同工酶酶谱的影响

王 艇¹⁾ 苏应娟¹⁾ 雷衡毅²⁾ 龚孟谦²⁾ 杨燕生²⁾

(? 1) 中山大学生物化学系; 2) 中山大学化学系, 广州 510275)

摘 要 采用聚丙烯酰胺凝胶电泳和等电聚焦电泳研究了稀土离子 Ce³⁺, Tb³⁺ 对鸡体内过氧化物酶 (POD)、超氧化物歧化酶 (SOD)、碱性磷酸酶 (AKP) 和酸性磷酸酶 (ACP) 四种同工酶酶谱的影响. 结果显示: Ce³⁺, Tb³⁺ 作用下, POD和 SOD酶谱的变异相对较小, 而 AKP和 ACP酶谱的变异却非常显著; Ce³⁺, Tb³⁺ 对不同脏器内同工酶的影响也不相同; 肝中的 POD和 SOD表现得很稳定, 即使饲喂稀土浓度达到 $1\,000 \times 10^{-6}$, 酶谱的变异也甚微, 但是在肾和肌肉中这两种酶的变异却比较明显. 同工酶是监测稀土活体生物效应的良好指标.

关键词 稀土, 过氧化物酶, 超氧化物歧化酶, 碱性磷酸酶, 酸性磷酸酶

分类号 Q 504

由于稀土对家禽具有明显的增产增重效果, 目前已被广泛地用作饲料微量添加剂, 且随着在食物链内的循环必将更为普遍地进入人体和周围环境. 但有关稀土的作用机理及其对生物体代谢过程的影响方式, 现还所知有限. 现有工作主要包括: 体外研究稀土化合物对酶、核酸等重要生物大分子活性和结构的影响^[1]; 稀土对离体培养细胞的作用、稀土离子对细胞膜和线粒体等亚细胞结构中组份的影响^[2,3]; 此外还有一些稀土宏观毒理学方面的报道^[4]. 而直接追踪稀土的活体代谢效应的研究却开展得不多.

同工酶是在分子水平上检测机体生理、生化变化非常灵敏的指标, 能迅速反映出机体代谢过程的改变. 为进一步了解稀土对活体的生物效应, 本文采用聚丙烯酰胺凝胶电泳和等电聚焦电泳技术研究了稀土离子 Ce³⁺, Tb³⁺ 对鸡体内过氧化物酶 (POD)、超氧化物歧化酶 (SOD)、碱性磷酸酶 (AKP) 和酸性磷酸酶 (ACP) 等同工酶酶谱的影响.

1 材料与方法

1.1 稀土的来源及处理 稀土 CeO₂, Tb₄O₇取自珠江冶炼厂, 纯度不低于 99.95%. CeO₂固体用盐酸羟胺和盐酸加热溶解, 加入氨水至稍过量生成浅黄色沉淀; 加热除去过量的氨, 调 pH至 8.0, 热水洗涤沉淀两次, 抽滤; 加入 1 硝酸溶解沉淀, 控制 pH为 5.0, 得到 Ce(NO₃)₃溶液并标定之. 配制和标定 Tb(NO₃)₃溶液的方法同上, 只是在用盐酸溶解 Tb₄O₇固体时不加盐酸羟胺.

按一定比例混合标定后的 Ce(NO₃)₃和 Tb(NO₃)₃溶液使得到的稀土硝酸盐溶液总浓度 0.10 mol/L, 其中 Ce(NO₃)₃0.054 5 mol/L, Tb(NO₃)₃0.045 5 mol/L.

1.2 实验动物的饲养 实验用鸡购自广东省实验动物厂. 将同日龄鸡随机分为 4 组, 每组 10 只. 其中 1 组为对照, 另外 3 组饲喂添加稀土溶液的小麦饲料, 稀土浓度分别为 100×10^{-6} , 300×10^{-6} 和 $1\,000\times 10^{-6}$. 鸡自然光下自由采食和饮水, 饲养期 2 个月.

1.3 酶提取液的制备 取鸡的肝、肾和肌肉组织, 用冷蒸馏水洗去表面血污, 液氮冷冻后, 按 1:1 (重体积比) 加入含 5% 葡萄糖的生理盐水 (加适量溴酚蓝作指示剂), 用研钵研磨, $12\,000\text{ r/min}$ 离心 2 次, 每次 15 min, 所得上清液即为酶提取液.

1.4 凝胶电泳 POD 和 SOD 采用聚丙烯酰胺凝胶电泳 (PAGE) 分离, AKP 和 ACP 采用等电聚焦 (IEF) 圆盘电泳分离. 具体步骤参照文献^[5].

2 结果与讨论

2.1 稀土对鸡体重的影响 同对照相比, 300×10^{-6} 的稀土浓度对鸡体重的增加有促进作用, 100×10^{-6} 对鸡体重略有负面影响, 而 $1\,000\times 10^{-6}$ 浓度对鸡生长的抑制作用显著.

饲喂添加适量稀土的饲料对鸡体重表现为正反两方面的效应. 饲料中只有添加合适浓度 (300×10^{-6}) 的稀土才会起促进作用, 过高浓度 ($1\,000\times 10^{-6}$) 反而抑制鸡的生长. 选择恰当的稀土浓度应成为生产实践中特别注意的问题.

表 1 不同稀土水平下鸡体重的改变

稀土总浓度	对 照	100×10^{-6}	300×10^{-6}	$1\,000\times 10^{-6}$
平均起始体度 (Kg)	0.21	0.21	0.21	0.21
两月后平均体重 (Kg)	0.89	0.86	0.94	0.78
平均增重倍数	3.24	3.10	3.48	2.71

2.2 稀土对鸡体内四种同工酶酶谱的影响 AKP, ACP, SOD 和 POD 是在代谢过程中具有重要功能的 4 种同工酶. AKP 属于含锌糖蛋白, 在 Mg^{2+} 作用下能催化各种磷酸单酯及其他

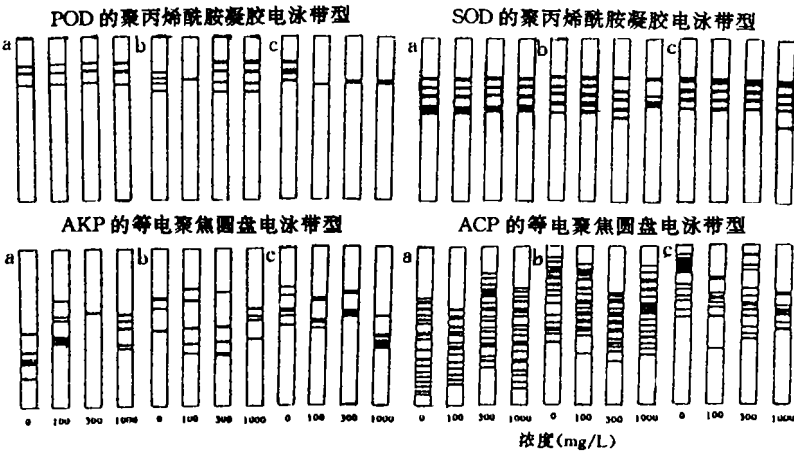


图 1 四种同工酶酶谱

(a) 肝 (b) 肾 (c) 肌肉

焦磷酸化合物的分解, 最适 pH 7.6~9.9. ACP 的作用是广泛催化各种磷酸单酯与磷蛋白的水解, 最适 pH 4.9~5.0^[6]. SOD 使超氧化物基经过歧化作用生成 O_2 和 H_2O_2 , H_2O_2 再由

POD进一步分解利用达到解毒的目的^[7]. 这些同工酶酶谱的改变无疑会对有机体的代谢产生重要影响 (图 1).

从电泳结果看出: Ce^{3+} , Tb^{3+} 对 4 种同工酶酶谱的影响程度有所不同, POD 和 SOD 酶谱的变异相对较小, 而 AKP 和 ACP 酶谱的变异却非常显著. 而对不同脏器内同工酶的影响也不同, 同是 POD 和 SOD, 它们在肝中表现得很稳定, 即使饲喂浓度达到 $1\ 000 \times 10^{-6}$, 酶谱变异也甚微, 但在肾和肌肉中的变异却较明显. 这些结果显示同工酶能迅速有效地反映出稀土对机体不同器官或组织的影响, 是监测稀土生物效应的良好指标.

进一步阐明稀土使同工酶酶谱发生变异的机理并且同时开展病理学研究, 将对认识稀土使用的安全性和了解稀土对有机体健康的影响具深远意义.

参 考 文 献

- 1 李新民, 倪嘉缙, 王平原, 生物化学杂志, 1995, 11: 281~ 285
- 2 张金红, 魏继中, 吴隽平, 等. 生物化学杂志, 1993, 91: 274~ 277
- 3 杨 频. 生物化学中的稀土元素. 化学通报, 1985, 33: 31~ 36
- 4 Evan C H. In E. Frieden, ed. Biochemistry of the lanthanides. New York and London, 1990, 339
- 5 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
- 6 小川和郎, 中根一穗 (钟慈声主译). 酶组织细胞化学技术. 上海: 上海医科大学出版社, 1989
- 7 王文杰. 超氧自由基和超氧化物歧化酶. 生理科学进展, 1985, 16: 196~ 202

Effects of Rare Earth Ions Ce^{3+} , Tb^{3+} on the Patterns of Four Chicken Isozymes

Wang Ting* Su Yingjuan Lei Hengyi Gong Menglian Yang Yansheng

Abstract The effects of rare earth ions Ce^{3+} , Tb^{3+} on the patterns of four chicken isozymes (POD, SOD, AKP and ACP) were investigated by utilizing PAGE and IEF methods. The results indicated: (1) Under the action of Ce^{3+} and Tb^{3+} , the variations of POD and SOD electrophoresis patterns are relatively small, while the patterns of AKP and ACP varying remarkably; (2) the effects of Ce^{3+} , Tb^{3+} on the isozymes vary with the organs where they are extracted; the POD and SOD in the liver show a evident stability—even when the rare earth concentration reaches $1\ 000 \times 10^{-6}$ in the feed, the variations of their patterns are still quite limited; but the patterns of the same isozymes in the kidney and muscle vary markedly. The results imply isozymes are appropriate markers to monitor the biological effects of rare earth on living body.

Keywords rare earth, peroxidase (POD), superoxide dismutase (SOD), alkaline phosphatase (AKP), acid phosphatase (ACP)

* Department of Biochemistry, Zhongshan University, Guangzhou 510275