

# 牛奶乳酸脱氢酶(LDH)同工酶特性的研究\*

罗 军 邱 怀 王双合

(西北农业大学动物科学系,陕西杨陵 712100)

**摘 要** 利用聚丙烯酰胺凝胶电泳(PAGE)方法和区带活力扫描技术,分析了 211 头黑白花奶牛乳中 LDH 的多态性及其活力与某些产奶性能的关系。结果表明,乳中 LDH 同工酶谱带与其他动物相似,并以 B 型酶占优势。LDH<sub>1</sub> 酶带的活力最高,同 305 d 产奶量呈极显著相关关系( $r=0.8903$ );LDH<sub>5</sub> 的活力与乳脂率和 305 d 产奶量存在显著的正相关( $r=0.7835$ )及负相关( $r=-0.7032$ )。方差分析发现,LDH 型和胎次对 305 d 产奶量和乳脂率有显著或极显著的影响作用,AA 型的最高,各型产奶量大小依次为:AA>AD>AB>AC>AE。

**关键词** LDH 同工酶,牛乳,产奶性能

**中图分类号** S823.912

乳酸脱氢酶(Lactic Dehydrogenase,简称 LDH)是一种糖酵解酶类,广泛存在于动物的各种组织内,对细胞内的一系列生物化学反应起重要的调控作用<sup>[1]</sup>。自从 Markert 首次发现 LDH 有多个组分之后<sup>[2]</sup>,人们对这些生物学活性相同,电泳特性不同的同工酶特点及生物学特性进行了大量的研究,发现对畜禽育种、生长发育及兽医临床诊断具有重要的意义<sup>[3]</sup>。近年来,研究者对家畜血清 LDH 同工酶的遗传方式等进行了更深入的探讨,研究对象包括水生动物<sup>[4]</sup>、哺乳类动物<sup>[5,6]</sup>和鸟类动物<sup>[2,7,8]</sup>,同时也对家畜血清 LDH 同工酶的活性进行了一系列研究<sup>[6,7,9,10]</sup>,但对奶牛乳中的 LDH 特性的研究报道较少。本研究以黑白花奶牛为对象,分析 LDH 的同工酶酶谱、遗传特点和多态性,并对多态性与生产性能的关系进行初步分析,旨在为 LDH 参与乳蛋白合成基因调控机理的研究和家畜选种提供理论依据。

## 1 材料与方 法

**材料** 分析的 211 头奶牛选自西安市草滩农场奶牛一队。于早晨采取奶样 10 mL 左右置低温冰箱待测。

**样品处理** 取 5 mL 奶样置于离心管内 3000 r/min 离心 10 min 制备脱脂奶,然后弃去脂肪层,加入 1 mol/L HCl 溶液沉淀酪蛋白,再次离心,弃去酪蛋白,分离乳清并置于低温冰箱内备用。

**同工酶分离** 利用不连续缓冲体系聚丙烯酰胺凝胶电泳(PAGE)进行乳酸脱氢酶(LDH)同工酶分析,所用凝胶浓度为 7.5%,其他电泳条件、染色方法等参照文献[11]的方法。

**定量扫描** 采用岛津 CS-930 型双波长薄层扫描仪对 LDH 同工酶谱带进行光密

收稿日期:1994-10-26

\* 高等学校博士点基金资助项目

度(OD)值扫描,记录扫描曲线及各吸收峰下的相对面积。

**统计分析** 收集所有样牛的有关生产性能资料,利用最小二乘方法分析各种 LDH 多态型以及酶活力与生产性能的关系。所有统计分析均利用 HARVEY 统计分析软件在 SUN-286 计算机上完成。

## 2 结果与分析

### 2.1 黑白花奶牛乳中 LDH 同工酶谱

采用上述方法电泳所得的 LDH 同工酶谱用 NaOH 溶液洗脱后,在岛津 CS-930 双波长薄层扫描仪上测得其最大吸收峰在 550 nm 处。

健康奶牛乳中 LDH 同工酶谱与其他动物一样,表现出一至五条谱带不等,从正极端依次为 LDH<sub>1</sub>,LDH<sub>2</sub>,LDH<sub>3</sub>,LDH<sub>4</sub> 和 LDH<sub>5</sub>,这种酶谱也同样广泛存在于其他体组织。

### 2.2 不同组织 LDH 同工酶谱带比较

有关奶牛不同组织 LDH 同工酶谱带的比较研究较少,但血清和奶中该酶的带型相似,与牦牛不同组织的谱带比较见图 1。

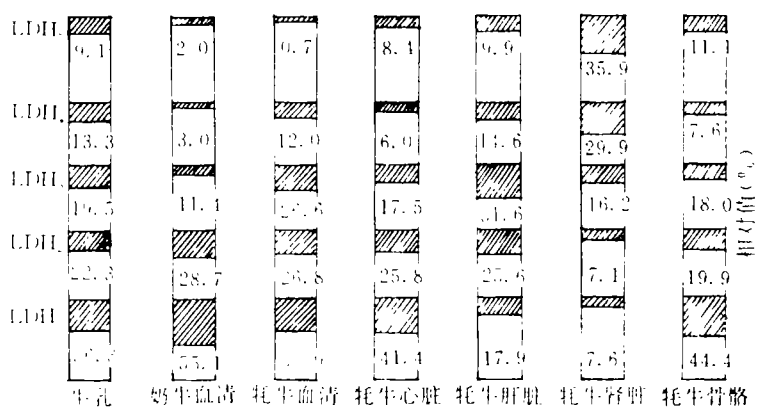


图 1 奶牛及牦牛不同组织的 LDH 同工酶谱<sup>[3,9]</sup>

### 2.3 各谱带相对活力的分析

对奶牛乳中 LDH 同工酶的分析发现(扫描图谱见图 2),活力大小顺序与血清的分析结果相同,依次为 LDH<sub>1</sub>>LDH<sub>2</sub>>LDH<sub>3</sub>>LDH<sub>4</sub>>LDH<sub>5</sub>,说明中国黑白花奶牛类群间 LDH 同工酶谱带表现出较好的一致性,但活力间有较大差异。从各同工酶区带的相对活力(表 1)。可以看出,奶牛乳和血清 LDH<sub>1</sub>,LDH<sub>4</sub> 和 LDH<sub>5</sub> 三种同工酶相对含量的差异较大,这可能与乳的合成过程有关,机理尚不清楚。另外根据两种亚基类型酶的比例来看,均以 B 型酶为高,但王鸽血清 LDH 同工酶恰好相反<sup>[7]</sup>,与

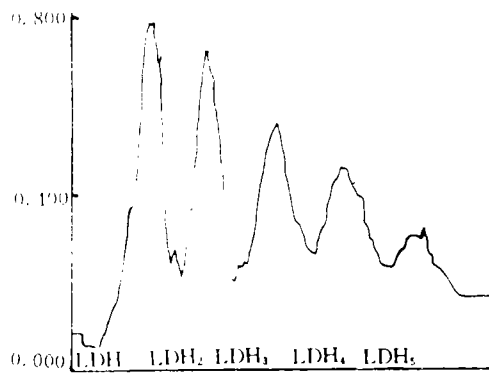


图 2 乳中 LDH 同工酶扫描图谱

两种亚基类型酶的比例来看,均以 B 型酶为高,但王鸽血清 LDH 同工酶恰好相反<sup>[7]</sup>,与

其他有关禽类的研究结果矛盾<sup>[5,12]</sup>。

表 1 各种动物 LDH 同工酶区带的相对活力和亚基比例

| 动物类别 | 组织 | 相对活力(%)          |                  |                  |                  |                  | 亚基类型 |      | 资料来源  |
|------|----|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------|------|-------|
|      |    | LDH <sub>1</sub> | LDH <sub>2</sub> | LDH <sub>3</sub> | LDH <sub>4</sub> | LDH <sub>5</sub> | A    | B    |       |
| 奶牛   | 乳  | 35.3             | 22.3             | 19.5             | 13.8             | 9.1              | 34.6 | 65.4 | 本实验   |
| 奶牛   | 血清 | 55.1             | 28.7             | 11.4             | 3.0              | 2.0              | 17.2 | 82.8 | 文献[1] |
| 牦牛   | 血清 | 33.9             | 26.8             | 26.6             | 12.0             | 0.7              | 29.7 | 70.3 | 文献[3] |
| 山羊   | 血清 | 53.5             | 15.2             | 23.6             | 5.9              | 2.6              | 22.7 | 77.3 | 文献[4] |
| 绵羊   | 血清 | 54.3             | 0.8              | 23.3             | 5.3              | 16.3             | 32.2 | 67.8 | 文献[4] |
| 王鸽   | 血清 | 23.5             | 6.8              | 0.6              | 20.6             | 48.5             | 66.0 | 44.0 | 文献[7] |

2.4 LDH 同工酶多态性与生产性能的关系

在本实验中发现,奶牛乳中 LDH 同工酶有明显的多态现象,其区带数由一至五条不等,活力的差别也较大。本研究对出现五条谱带的 57 头奶牛的产奶量与各酶的相对活力进行了相关分析(见表 2)。

表 2 产奶性能与各酶相对活力间的相关系数

| 变量       | LDH <sub>1</sub>     | LDH <sub>2</sub> | LDH <sub>3</sub> | LDH <sub>4</sub> | LDH <sub>5</sub> |
|----------|----------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| 305 d 奶量 | 0.8903**             | 0.3193           | 0.1425           | -0.3704          | -0.7032**        |
| 全期奶量     | 0.5667*              | 0.2576           | 0.4025           | -0.1122          | -0.3258          |
| 乳脂率      | -0.3857 <sup>†</sup> | 0.4082           | 0.2573           | 0.3058           | 0.7835**         |

由表 2 可以看出,LDH<sub>1</sub> 的活力同 305 d 奶量间有极显著的相关关系,其相关系数达 0.8903,同其他学者在奶牛上的研究结果相似<sup>[9]</sup>。与乳脂率间呈负相关(-0.3857),与全期奶量呈显著正相关。LDH<sub>5</sub> 的活力与 305 d 奶量有负相关、与乳脂率有正相关关系,其他变量之间没有明显的相关性,仍需扩大样本进行实验证实。

表 3 LDH 同工酶对生产性能效应方差分析的 F 值表

| 变异来源     | 自由度 | 305 d | 全期奶量 | 乳脂率    |
|----------|-----|-------|------|--------|
| 胎次       | 2   | 4.53* | 2.16 | 6.51** |
| LDH 型    | 4   | 2.85* | 1.32 | 2.90** |
| 胎次×LDH 型 | 8   | 1.94* | 0.65 | 1.25   |
| 误差       | 149 |       |      |        |

方差分析结果(表 3)表明,胎次和同工酶型对 305 d 奶量和乳脂率均有显著或极显著影响。经多重比较发现,黑白花奶牛第二胎 305 d 产奶量显著高于第三和第一胎,第一胎乳脂率高于第三和第二胎,这与前人的研究结论相同。同工酶多态型间 305 d 奶量差异显著,按奶量高低依次为:AA>AD>AB>AC>AE,与相关分析的结果一致,说明由 AA 型所代表的 LDH<sub>1</sub> 对生产性能有显著影响作用;乳脂率的大小依次为:AE>AC>AD>AB>AA,但影响机理仍不清楚。

3 讨 论

3.1 乳中 LDH 同工酶的遗传特点

LDH 的五种同工酶由 ldha 和 ldhb 基因翻译所产生的 A 亚基和 B 亚基以相同或不

同的方式组成的四聚体<sup>[13]</sup>。这种同工酶谱几乎在所有哺乳动物都表现得十分典型<sup>[3]</sup>,乳中该酶同工酶的分析结果也不例外,与血清的电泳图谱基本相似,证明了 LDH 分子构型的同质性和 B 亚基含量占相对优势的酶谱分布特征。但各酶带的活力有较大差异,可能与乳的合成有关,其影响机理尚需进一步的实验证实。

### 3.2 作为遗传标记应用于家畜育种中的可能性

在家畜遗传育种中,同工酶已广泛地应用于杂交优势的预测和动物发生遗传学的研究等领域之中,并且取得了可喜的成果。目前已由血清 LDH 同工酶与奶牛产奶性能的关系分析得出了初步的研究结果,而乳中该酶的多态性与血清相比能更为准确地反映其内在联系,可望作为某些生产性能选择的质量性状应用于家畜生产实际。奶牛属于反刍动物,不能直接吸收葡萄糖,瘤胃中的丙酸为合成葡萄糖的主要原料,这个过程为一需氧反应。牛乳的生成需要的葡萄糖量越大,奶量越高;丙酸转化为葡萄糖的速度加快,氧张力越高,有助于 B 基因的表达,LDH<sub>1</sub> 的活力也就越大<sup>[1]</sup>,这就是该同工酶可用于奶量选种的理论依据。

### 3.3 LDH 同工酶的基因调控

LDH 同工酶是基因表达的产物,而且在不同的组织具有典型的特异性变化,所以它是研究高等脊椎动物基因表达调控的理想模型<sup>[6]</sup>。研究证明,由 4 个 B 亚基组成的 LDH<sub>1</sub> 的活力受 ldhb 基因调控,而 LDH<sub>5</sub> 受 ldha 基因的调控。但编码 LDH 同工酶的两个基因的表达,受组织氧张力的调节,氧张力愈高,B 亚基愈多,直接影响 ldhb 基因的表达,从而决定了 LDH<sub>2</sub> 的活力。控制 LDH 同工酶的 ldha 和 ldhb 基因的表达速率的差别,或翻译后装配成全酶过程中的调节及亚基的降解,都会影响 LDH 基因座的表达方式。因此对不同组织产生不同酶谱的机理还有待深入的研究,才能获得其基因表达方面更为确切的解释。

### 参 考 文 献

- 1 Kraus A P, Neely C L. Human erythrocyte LDH; four genetically determined variants. *Science*, 1964, 145: 595~597
- 2 Markert C L, Ursprung H. The ontogeny of isozyme patterns of LDH in the mouse. *Develop Biol*, 1962, 5: 363~381
- 3 张学舜. 牦牛主要组织器官 LDH 同工酶的酶谱. *中国牦牛*, 1989(2): 16~26
- 4 Shaklee J B. LDH of gadform fishers, divergent patterns of gene expression indicate a heterogeneotix taxon. *Copeia*, 1981, 3: 563~578
- 5 吴鹤龄, 李士鹏. 初生北京鸭四种组织 LDH 同工酶的分析. *畜牧兽医学报*, 1994, 25(1): 1~4
- 6 许玉德. 牦牛的品种培育. *草与畜杂志*, 1991(3): 11~13
- 7 沈秋姑. 琼脂凝胶电泳法测定王杂鸽血清 LDH 同工酶的研究. *江西畜牧兽医*, 1989(1): 10~12
- 8 Stambaugh R, Post D. Substrate and product inhibition of rabbit muscle LDH heart (H<sub>4</sub>) and muscle (M<sub>4</sub>) isoenzymes. *J Biol Chem*, 1966, 24(7): 1462~1467
- 9 陈守筠, 樊云碧. 黑白花奶牛血清 LDH 同工酶活力与其产奶性能的相关分析. *西南民族学院学报(畜牧兽医版)*, 1989, 15(1): 20~28
- 10 王杰. 英国吐根堡奶山羊血清 LDH 同工酶的初步研究. *四川草原*, 1991(1): 41~43
- 11 张德安, 林永齐, 刘兰英等编. 生物大分子实验手册. 长春: 吉林大学出版社, 1991. 464~467
- 12 吴鹤龄, 李士鹏. 北京鸭 LDH 同工酶的研究. *遗传学报*, 1987, 14(2): 135~141
- 13 (日)清水祥一著; 陈石根译. 酶分析法的原理及应用. 上海: 上海科技文献出版社, 1982. 112~114

## Study on the Characters of LDH Isoenzymes in Cow's Milk

Luo Jun Qiu Huai Wang Shuanghe

(Department of Animal Science, Northwestern Agricultural University, Yangling, Shaanxi, 712100)

**Abstract** The relationships between milk producing traits and characteristics of LDH isoenzymes, including its polymorphisms and relative activity in cow's milk, were analysed by using a combination of PAGE and spectrophotometric scanning. The result showed that the spectrum of the LDH isoenzymes in cow milk demonstrated a similar pattern with tissues of other animals and B-type had an advantage in contents over A-type. The relative activity of LDH<sub>1</sub>, the highest among all bands of the LDH enzymes, had a significant association with 305 d milk yield, while the activity of LDH<sub>5</sub> showed positive and negative correlations with fat percentage and 305 d milk yield, respectively. The LDH types and parities exhibited a marked effect on the 305 d milk yield and fat percentage by an analysis of variance.

**Key words** LDH isoenzymes, cow's milk, milk producing traits

## 欢迎订阅 1996 年《北方园艺》

《北方园艺》为黑龙江省园艺学会和黑龙江省农业科学院园艺所联合主办的,是我国北方地区唯一的一份科学研究与技术普及相结合的综合性大型期刊。刊登国内、外园艺新成果、新技术、新信息,普及生产知识、解答疑难问题。本刊包括果树、蔬菜、瓜类、花卉、植保、贮藏与加工等方面内容。读者对象为园艺科研人员、政府部门领导干部、农林、师范、大中专院校师生和农村科技户、专业户城乡离退休人员以及园艺爱好者。为双月刊、16开本、64页,每期定价6.00元,全年6期共36.00元。可以通过编辑部直接发行,您只要将款汇到编辑部,把您的地址、姓名写清楚就可以了,如需挂号邮寄另加3.00元。