

青海石鸡血清淀粉酶同工酶酶谱及其活性研究

王勇¹, 晁生玉² (1. 青海大学, 青海西宁 810016; 2. 青海省海西州动物卫生检疫总站, 青海德令哈 817006)

摘要 [目的] 为青海石鸡的生化遗传学研究提供基础资料。[方法] 采用聚丙烯酰胺凝胶垂直平板电泳法对 39 只青海石鸡血清淀粉酶同工酶酶谱进行研究, 并利用比色法对其淀粉酶活性进行测定。[结果] 青海石鸡血清淀粉酶有 Amy-1, Amy-3 2 种同工酶, 其中 Amy-1 有 AA, AB 和 BB 3 种表型, 表型频率分别为 17.95%、66.67%、15.38%; AB 为优势表型, Amy-1^A 和 amy-1^B 等位基因频率分别为 0.5128 和 0.4872, 基因杂合度为 0.4997; 青海石鸡血清淀粉酶活性为 (566.62 ± 112.20) U/L。[结论] 青海石鸡 Amy-1 同工酶呈现多态性, Amy-1 AB 表型的血清淀粉酶活性显著高于 Amy-1 AA 和 Amy-1 BB 表型。

关键词 青海石鸡; 血清淀粉酶; 同工酶; 活性

中图分类号 S813.1 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2009)31-15257-02

Study on Isozyme Pattern and Activity of Serum Amylase in Qinghai *Alectoris graeca*

WANG Yong et al (Qinghai University, Xining, Qinghai 810016)

Abstract [Objective] The aim of the study was to provide basic data for biochemical genetic study of Qinghai *Alectoris graeca*. [Method] 39 Qinghai *Alectoris graeca* were used to study isozyme pattern of serum amylase and activity with vertical polypropylene gel electrophoresis and spectrophotometry, respectively. [Result] The study showed that there were two isozymes of serum amylase including Amy-1 and Amy-3 in Qinghai *Alectoris graeca*. There were three kinds of types that were AA, AB and BB in Amy-1 isozyme, and the phenotype frequency of AA, AB and BB were 17.95%, 66.67%, 15.38%. The AB was the advantageous type, and the allele frequency of Amy-1^A and Amy-1^B were 0.5128 and 0.4872 respectively. The gene heterozygosity was 0.4997. The average activity of serum amylase was (566.62 ± 112.20) U/L. [Conclusion] The Amy-1 isozyme existed the polymorphism in Qinghai *Alectoris graeca*. The activity of serum amylase in the Qinghai *Alectoris graeca* with Amy-1 AB phenotype was significantly higher than that in the *Alectoris graeca* with Amy-1 AA and Amy-1 BB phenotype.

Key words Qinghai *Alectoris graeca*; Serum amylase; Isozyme; Activity

青海石鸡属鸡形目 (Galliformes), 雉科 (Phasianidae), 石鸡属 (*Alectoris*), 青海亚种 (*Alectoris graeca magna*), 又叫“嘎嘎鸡”、“红腿鸡”、“尕拉鸡”, 分布于我国青海、甘肃和宁夏境内^[1]。2003 年石鸡被国家首批批准为可进行商业性经营利用和驯养繁殖的陆生野生动物[林护发(2003)121号], 通过对青海亚种石鸡的习性、繁殖、食性、换羽、天敌和数量统计等方面的调查研究, 表明青海亚种石鸡具有可开发的经济潜力^[2]。目前, 对石鸡血液生理生化指标特性的研究较少^[3-4], 关于石鸡血清同工酶酶谱方面的研究尚未见报道。同工酶是指具有相同催化功能而化学结构不同的酶, 受一个或几个基因座等位基因的控制, 是动物种群特征的重要组成部分, 目前广泛应用于探讨畜禽品种的起源、种群亲缘关系分析、亲子鉴定, 以及近缘种动物分类及人工饲养繁殖的选育等。为此, 笔者对柴达木盆地德令哈地区野外捕获的青海亚种石鸡血清同工酶进行了研究, 以期青海石鸡的生化遗传学研究提供基础资料, 并为该物种的资源评价、生态保护以及人工饲养繁殖等提供依据。

1 材料与方

1.1 试验动物 被检 39 只野生青海亚种石鸡来自柴达木盆地德令哈地区。

1.2 血样采集与处理 从试验石鸡翼下静脉采取血液 2 ml, 迅速分离血清, 供 AMY 电泳分析及活性测定。

1.3 血清淀粉酶活性测定 按文献[5]的方法采用碘比色法测定血清淀粉酶活性。测得数据以平均数 (\bar{x}) 和标准差 (s) 统计。

1.4 电泳与判型 采用聚丙烯酰胺凝胶垂直平板电泳 (PAGE) 法分离 AMY 同工酶, 电泳操作参考文献[6-7], 略

作者简介 王勇(1967-), 男, 重庆大足人, 副教授, 从事临床兽医学方面的教学和科研工作。

收稿日期 2009-07-08

加修改后进行。根据区带泳动速度、钙离子对淀粉酶活性的影响判定 Amy 表型。

1.5 相对迁移率计算 各电泳区带的相对迁移率 (R_f) 按常规方法计算, 即 $R_f = \text{酶带泳动距离}(X_1) / \text{指示染料泳动距离}(X_2) \times 100\%$ 。

1.6 数据分析 按电泳实测数计算表型频率; 根据家鸡 Amy-1 同工酶受一对等位基因 Amy-1^A 和 Amy-1^B 控制, Amy-1^A 和 Amy-1^B 为共显性关系计算基因频率^[8-9]; 按公式 $H = 1 - \sum_{i=1}^n P_i^2$ (式中, P_i 为某基因座第 i 个等位基因频率, n 为等位基因数) 计算其基因杂合度。

2 结果与分析

2.1 石鸡血清 AMY 同工酶酶谱 根据被检青海石鸡血清 AMY 同工酶酶谱 (图 1) 泳动速度, 从阴极到阳极依次分离出 Amy-3 和 Amy-1 2 种 AMY 同工酶谱带。Amy-1 同工酶的泳动速度最快, 有快带 (F) 和慢带 (S) 2 条谱带组成, F 带的活性较 S 带强, 并显示出多态性。Amy-3 同工酶仅一条谱带, 不表现多态性, 且活性较弱。该研究被检石鸡血清经电泳后在加钙和不加钙离子的孵育液中获得电泳图谱相同, 未见 Amy-2 同工酶出现。

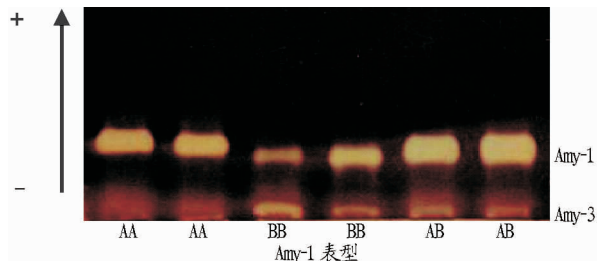


图 1 青海亚种石鸡血清 AMY 同工酶电泳图谱
Fig. 1 The isozyme electrophoretogram of serum amylase in Qinghai *Alectoris graeca*

2.2 石鸡血清 Amy-1 同工酶多态性特征 被检青海石鸡血清 Amy-1 同工酶具有 3 种表型(图 1),即 Amy-1 AA(F 带),Amy-1 BB(S 带)和 Amy-1 AB(由 F 和 S 带组成,并融合成一条较宽的酶区带),其表型出现频率分别为 17.95%、66.67%、15.38%,其中 AB 为优势表型。Amy-1^A 和 Amy-1^B 等位基因频率分别为 0.512 8 和 0.487 2,基因杂合度为 0.499 7。

2.3 AMY 同工酶相对迁移率 被检青海石鸡血清 Amy-1 AA、Amy-1 BB 和 Amy-3 同工酶相对迁移率分别为 19.70%、15.15% 和 3.03%。

2.4 Amy-1 同工酶表型与酶活性的关系 被检青海石鸡血清淀粉酶活性为 (566.62 ± 112.20) U/L,其中 Amy-1 AB (584.60 ± 107.27) U/L 表型石鸡的血清淀粉酶活性极显著和显著高于 Amy-1 AA (468.73 ± 92.75) U/L 和 Amy-1 BB (475.65 ± 103.30) U/L,AA 型和 BB 型石鸡间 AMY 活性差异不显著。

3 结论与讨论

(1) 血清淀粉酶属于 α-淀粉酶,是一种水解多糖分子 α-1,4 糖苷键的内淀粉酶,主要存在于动物机体的血液和细胞中,在动物的生理代谢和生产中起着重要的作用。因此,一直倍受国内外学者的关注而广泛研究,并较详细的阐述了家鸡血清淀粉酶多态性及其在育种应用中的研究动态^[10]。研究表明,家鸡血清淀粉酶同工酶可能由 Amy-1, Amy-2 和 Amy-3 3 个基因位点控制。其中 Amy-1 多态性是由一对等显性基因 Amy-1^A 和 Amy-1^B 支配,以其杂合子 AB 表型占优势;Amy-2 多态性是由一对显隐性基因控制,且显性基因频率很低;Amy-3 主要以单态形式存在。这与该试验在青海石鸡血清 AMY 同工酶的研究结果有相似之处。青海石鸡血清 AMY 同工酶分离出 Amy-1 和 Amy-3 2 种 AMY 同工酶谱带, Amy-1 有 AA、AB 和 BB 3 种表型而呈现多态性,表型频率分别为 17.95%、66.67%、15.38%,AB 为优势表型, Amy-1^A 和 Amy-1^B 等位基因频率分别为 0.512 8 和 0.487 2,基因杂合度为 0.499 7; Amy-3 仅一条谱带,不表现多态性;却未检出

Amy-2 同工酶酶谱,是青海石鸡 Amy-2 均为隐性基因控制的结果,还是石鸡的生物学特性之故,有待扩大样本数作进一步研究。但在一定程度上也反映了 AB 型和 Amy-2 隐性基因型的青海石鸡在恶劣的自然生态环境选择中具有较强的栖息能力。

(2) 在绵羊^[11] 和大骨鸡上^[12] 的研究表明,血清淀粉酶活性与其淀粉酶表型存在着一定的内在联系。该试验在青海石鸡上也发现了这一特性,被检青海石鸡血清淀粉酶活性 (506.62 ± 146.20) U/L 在健康家鸡 (269.0 ~ 638.3) U/L 报道的范围内,其中 AB 型石鸡血清淀粉酶活性显著高于 AA 和 BB 型,这与在大骨鸡上的报道相似^[12],这可能是禽类所共有血液生物学特性。

参考文献

- [1] 中国科学院西北高原生物研究所. 青海经济动物志[M]. 西宁:青海人民出版社,1989:286-293.
- [2] 刘迺发,杨友桃. 石鸡青海亚种的生态[J]. 动物学研究,1982(1):23-25.
- [3] 陈玉琴,俞诗源. 红腹锦鸡、石鸡和雉鸡的部分血液生理生化指标[J]. 动物学报,2007,53(4):674-681.
- [4] 周天林,韩芬茹. 3 种雉科鸟类血液生理指标的比较研究[J]. 经济动物学报,2006,10(2):85-87.
- [5] 催福生. 医学生化检验手册[M]. 天津:天津科学技术出版社,1982:314-315.
- [6] 胡能书,万国贤. 同工酶技术及其应用[M]. 长沙:湖南科学技术出版社,1985:112-117.
- [7] 张才骏,杨殿斌. 青海藏羊血清酯酶的研究[J]. 中国养羊,1992(4):31-33.
- [8] 肖朝武,吴显华. 家鸡血清淀粉酶的多态现象[J]. 遗传,1989,11(6):18-20.
- [9] HASHIGUCHI T. Genetical studies on serum amylase isozyme in fowls[J]. Japan J Genet,1970,45:341-344.
- [10] 王延峰,文风云,刘长海,等. 家鸡血清淀粉酶多态性及其在育种中的应用[J]. 延安大学学报:自然科学版,2004,23(3):66-68.
- [11] 张才骏,李成魁. 夏藏一代羊血清淀粉酶活性及同工酶[J]. 青海畜牧兽医杂志,1999,29(6):3-5.
- [12] 郑树贵,石娇,白文林. 大骨鸡血清淀粉酶同工酶谱及其活性的测定[J]. 中国家禽,2007,29(4):20-22.
- [13] LIU G Y, PENG L J, CHEN F J. Analysis of amylase and superoxide dismutase isozymes during the germination process of emmenopterys henryi oliv Seeds[J]. Agricultural Science & Technology,2009,10(2):6-8,19.

(上接第 15256 页)

表 1 乌骨鸡各部分黑色素的含量

Table 1 The content analysis of melanin from parts of silkie

试验号	样品	取用量//g	所得产品量//g	百分含量//%
Test No.	Samples	Use amount	Extracted sample amount	Percentage
1	肌肉	50.02	0.160 2	0.320 27
2	鸡皮	50.06	0.176 1	0.351 78
3	鸡皮	50.01	0.181 9	0.363 73
4	鸡皮	50.02	0.191 7	0.383 25
5	肌肉	50.02	0.158 7	0.317 27

且产率多。如用绞肉机绞成碎末,用盐酸浸不易倾倒液体,抽滤又会造成黑色素的大量损失。

(3) 用盐酸浸泡时,最好浸泡 8 h 左右,不宜过久或过短,用来回倾倒方法弃去盐酸,不宜采用抽滤法。

(4) 鸡皮中因含较多的脂肪,为了提高其纯度,在加热回流后进行快速冷冻,用小匙除去其油块,反复多次用石油醚洗脱,除去盐分、油脂,效果很好,既节约了操作时间,又使黑色素纯度较先前明显提高。

(5) 建立了一种好的试验方法,试验数据的稳定性、再现性与可靠性,说明该试验方法具有可靠性、稳定性与可操作性的优点。

参考文献

- [1] 蔡华珍,陈守江,张丽,等. 乌骨鸡黑色素的酶法提取及其抗氧化作用的初步研究[J]. 食品与发酵工业,2006(1):99-102.
- [2] 袁纛. 乌骨鸡黑色素一些基本结构特征的初步研究[J]. 动物学报,1993,39(3):287-288.
- [3] 郑金生. 药物本草[M]. 北京:中国医药科技出版社,1990:237-239.