

重庆竹犬血清蛋白质多态性分析*

俞纯方, 范建国

(西南大学 动物科技学院, 重庆 400716)

摘要 利用聚丙烯酰胺凝胶的垂直管型盘状电泳, 对重庆竹犬血清的前白蛋白(Pa)、白蛋白(Alb)、后白蛋白(Po)的多态性进行了检测, 并计算它们的基因型频率和基因频率。结果表明, Alb呈现单一的ALBBB型, Pa未出现条带, Po呈现多态性, 并且存在 PoA^-B 、 $PoAA$ 、 $PoAA^-$ 三种表现型, 其基因型频率分别为42.86%、42.86%、14.28%, Po^A 、 Po^B 、 Po^A^- 等位基因频率分别为0.5000、0.2143、0.2857。

关键词 重庆竹犬; 前白蛋白(Pa); 白蛋白(Alb); 后白蛋白(Po)

中图分类号 S829.2; Q512⁺.1

文献标识码: A

文章编号: 1672-6693(2007)03-0017-03

Analysis of Protein Polymorphisms in Serum of Chongqing Bamboo Canine

YU Chun-fang, FAN Jian-guo

(College of Animal Science and Technology, Southwest University, Chongqing 400716, China)

Abstract: The genetic polymorphisms of serum Prealbumin(Pa), serum albumin(Alb) and Postalbumin(Po), in Chongqing Bamboo Canine are investigated with the method of polyacrylamide gel disc electrophoresis. As a result, the single gel of Alb and no gel of Pa are observed. Meanwhile, there gels of Po(Po^A^-B , $PoAA$, $PoAA^-$) are observed. The results reveal that their alleles and genotype frequencies are 0.5000, 0.2143, 0.2857 and 42.86%, 42.86%, 14.28% respectively.

Key words: Chongqing Bamboo Canine; Prealbumin(Pa); serum albumin(Alb); Postalbumin(Po)

从20世纪60年代以来, 血液生化遗传标记已被广泛用于家畜群体遗传结构分析、亲子鉴定、甚至作为早期选择的辅助指标。重庆竹犬是重庆名犬, 有一定的观赏价值, 它能在高热、潮湿、气候多变的环境中健康生长和繁衍后代。它以体型小、凶狠好斗、猎捕能力高超, 深受广大收养者欢迎, 现正拟申报为世界名犬。目前尚未见竹犬的血液生化遗传标记方面的研究报告。鉴此, 笔者对竹犬的血清白蛋白(Serum albumin, Alb)、后白蛋白(Postalbumin, Po)和前白蛋白(Prealbumin, Pa)多态性进行了初步探讨。

1 材料与方法

实验动物取自重庆市北碚区内7条棕色竹犬, 体重10~15 kg, 皆为临床健康, 从前肢静脉采取非抗凝血5 mL, 迅速分离血清备用。

电泳仪(DYY-III4型, 北京六一厂)和圆盘电泳槽1套、电冰箱、真空泵、抽滤瓶等。电泳分离采用不连续梯度聚丙烯酰胺圆盘凝胶电泳^[1-2]。分离胶质量分数7.2%, 交联度2.5%, pH=8.9, 浓缩胶质量分数5.6%, 交联度20%, pH=6.7。0.1%琼脂封底, 电极缓冲液为pH8.3的0.06% Tris-Gly 缓冲液。血清样品每管加10 μ L, 并加0.03% 溴酚兰作电泳指示剂, 在4℃下海管电泳维持2 mA 电泳2 h。

将剥离好的凝胶放入小培养皿中, 此刻将配好的0.5% 氨基黑10B 染色液倒入小培养皿中, 进行染色, 染色的时间应为2 h左右。在染色时应该暴露出液面。

判型标准参照铃木正三的图谱, 根据区带泳动速度, 着染强度综合判定^[3]。

基因频率(或表型频率): Alb位点按受共显性等位基因控制的假设, 根据实测电泳表型计算基因

* 收稿日期 2007-03-28

作者简介: 俞纯方(1949-), 男, 四川三台人, 副教授, 硕士研究生导师, 研究方向为动物生物化学。

频率和基因型频率^[4]。

2 试验结果

- (1) 前白蛋白 Pa 被检测的竹犬的血清 Pa 未出现区带。
 (2) 白蛋白 Alb 被检测的竹犬血清 Alb 呈单态,

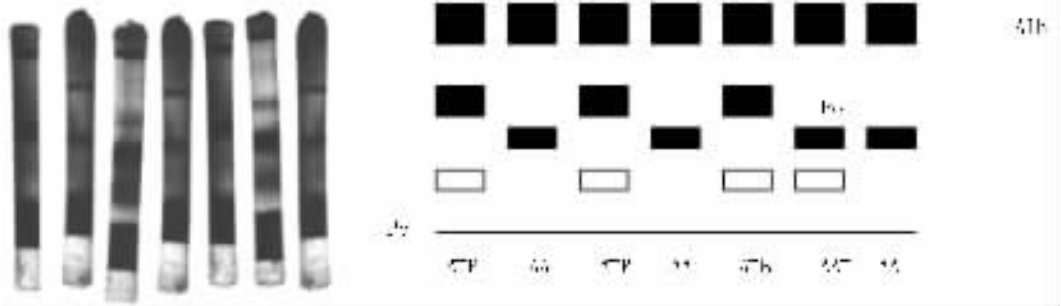


图1 竹犬的 Alb 和 Po 的电泳表型

3 讨论

3.1 前白蛋白 Pa

本次实验未发现 Pa 区带是属正常,因为在很多文献资料中报道,犬血清中未出现 Pa 区带,如铃木正三^[3]记载的资料中只有白蛋白、后白蛋白,未曾记载前白蛋白,晁生玉^[5]在研究青海藏獒的血清蛋白质多态性时也未发现 Pa 区带。

3.2 白蛋白 Alb

据铃木正三^[3]记载,犬血清 Alb 有 AA、AB 和 BB 三种基因型。它们受常染色体位点上两个共显性等位基因 Alb^A 和 Alb^B 控制。田名部^[6]等对日本犬 Alb 的调查发现,多数犬以 Alb^B 为优势基因,而柴犬(山阴)呈现单一的 Alb^B 型。Kim 对南朝鲜犬的研究发现 Alb 也存在多态性,但它们的 Alb^A 和 Alb^B 基因频率大致相同。本次实验结果发现竹犬与上述情况不同,但与晁生玉^[4]在研究青海藏獒血清蛋白质多态性时所得的结果相吻合,当然,重庆竹犬与青海藏獒是否有共同的遗传因素,尚有待进一步证实,本次实验结果为 Alb 显示单一的 AlbBB 型,没有发现多态性。然而,由于本实验的样本数太少,因此尚不能下竹犬的血清 Alb 呈单态的结论。由于没有标准血清,竹犬中存在的 Alb 变异体是 AlbAA 或 AlbBB 还不能作定论,本实验中暂将其称为 AlbBB。

3.3 后白蛋白 Po

由实验结果可见,竹犬 Po 位点存在 3 种电泳表型而表现出多态性。这与铃木正三^[3]记载的实验结果基本相符。然而,从实际的实验结果电泳图中可

呈现单一的 Alb BB 型。

(3) 后白蛋白 Po:存在 PoAB、PoAA、 $PoAA^-$ 三种表现型而表现出多态性(见图 1),各种表型的频率分别为 42.86%、42.86%、14.28%。 Po^A 、 Po^{A^-} 、 Po^B 的基因频率分别为 0.500 0、0.285 7、0.214 3。

以看到,每种表型都有一条浓染主带,有或没有一条淡染次带,如以主带命名,则可分为 A 和 B 两型,其出现分别为 78.57% 和 21.43%。如考虑次带及其运动速度则可呈现上文叙述的 3 种表型。由此推测,竹犬的 Po 存在着复杂的多态性,其中还可能有多态性。在 A 区带位点上有 A 和 A^- (淡染主带)两种,还有在染色后的 3 管中发现 B 区带后面出现一条淡染的区带,由于样本数量少,暂时无法确定该区带与 Po 有关,也有可能是过硫酸胺对样品造成纯化或引起其他人为效应而造成的偏差。这种存在量多态性的情况,张才骏^[7]等在对牦牛血红蛋白的研究中有较详细的讨论,他们认为牦牛血红蛋白可能呈现出一种伴有修饰基因的复杂遗传方式。竹犬是否与牦牛 HB 的遗传有相似之处尚待进一步加以证实。

表1 Alb 和 Po 的质量分数

竹犬序号	$w_{Alb}/\%$	$w_{Po}/\%$
1	51.10	48.90
2	51.99	48.01
3	64.29	35.71
4	59.28	40.72
5	63.40	36.60
6	66.24	33.76
7	52.07	47.93
$\sum x$	408.37	291.63
\bar{x}	58.34	41.66

3.4 蛋白质含量的分析

从表 1 可以看到竹犬血清中的白蛋白明显高于后白蛋白,并且这个结果与张龙翔等测定的白蛋白含量在 55% ~ 61% 基本相吻合^[8]。从而可得出该

实验所反应的是白蛋白和后白蛋白。

从表2中可以看出 Po 存在多态性,而且 Po^A 在整个 Po 中所占的含量最大,故 Po^A 所出现的频率最高, Po^A 的基因频率最大。该结果与铃木正三所记载的结果基本相符^[3]。

表2 Po^A 、 Po^{A^-} 和 Po^B 在 Po 中的质量分数

竹犬序号	$w_{Po^A}/\%$	$w_{Po^{A^-}}/\%$	$w_{Po^B}/\%$
1	49.83	50.17	0
2	0	45.94	54.06
3	100	0	0
4	0	62.22	37.78
5	100	0	0
6	100	0	0
7	0	47.89	52.11
$\sum x$	349.83	206.22	143.95
\bar{x}	49.97	29.46	20.57

4 结论

通过以上的分析和讨论,本次实验的结论是 Alb 呈现单一的 AlbBB 型, Pa 未出现条带, Po 呈现多态性;并且存在 $Po^{A^-}B$ 、 $PoAA$ 、 $PoAA^-$ 三种表现

型,其基因型频率分别为42.86%、42.86%、14.28%。 Po^A 、 Po^B 、 Po^{A^-} 等位基因频率分别为0.5000、0.2143、0.2857。

参考文献:

- [1] 俞纯方. 八个品种家兔血清 LDH 同工酶电泳分析[J]. 中国养兔杂志,1995(2):15-19.
- [2] 邓俊林. 鼠脑己糖激酶的纯化及铝离子对该酶的影响[J]. 重庆师范学院学报(自然科学版),1998,15(4):11-15.
- [3] 铃木正三. 比较血清学[M]. 程光潮译. 北京:中国科学技术出版社,1991.
- [4] 孙志贤. 现代生物化学理论与研究技术[M]. 北京:军事医学科学出版社,1995.
- [5] 晁生玉. 青海藏獐血液蛋白质多态性的初步研究[J]. 畜牧与兽医,1998,30(2):55-56.
- [6] 田名部雄一. 在未来家畜研究会上的报告[J]. 日兽会志,1980(2):169-230.
- [7] 张才骏. 中国牦牛[M]. 北京:中国农业出版社,1987.
- [8] 张龙翔,张庭芳,李令媛. 生化实验方法和技术[M]. 北京:高等教育出版社,1997.

(责任编辑 李若溪)