

# 小苹果花药培养获得单倍 体植株简报

东北农学院园艺系 吴绛云

我院园艺系果树组织培养试验室经过三年试验,于一九八〇年二月开始从小苹果品种黄太平的花药中先后培养出具有根茎叶的花粉植株,经过染色体倍性鉴定, $2n=17$ 。

所采用接种期以单核靠边期为主,去

分化培养基为MS附加IAA 2毫克/升,动力精 2毫克/升,分化培养基为MS附加BA1毫克/升, NAA 0.5毫克/升,生物素 5毫克/升,水解乳蛋白500毫克/升,蔗糖20%,生根培养基为MS (大量元素减半)附加IAA 1毫克/升, IBA 0.2毫克/升。

## 浅谈同工酶

哈尔滨师范大学 生物系

黄永芬 汪清胤

1959年 Markovt 和 Möller 在研究乳酸脱氢酶(LDH)提纯时提出了同工酶的概念。同工酶(Isozyme或Isoenzyme)指的是具有相同来源,催化同一生化反应,但结构不同的酶,也可以说是存在于同一有机体中的一种酶的多种分子形式。

目前的研究证明,生物体内的大部分酶都具有同工酶现象。同工酶的普遍存在显然是生物在长期进化中形成的对细胞内代谢差异的适应。虽然所有细胞的代谢基本上都是类似的,但每种多细胞生物中都存在着大量细胞上的差异,即使单细胞生物之间也是如此。这种代谢上的差异,必然出现在细胞进化的早期而成为现代生物的特征,也就是细胞可以利用多种不同的分子结构来构成同工酶系统;由于同工酶之间结构的差异,因此,它们对共同作用

的底物最适浓度、反应的最适PH、温度、离子强度,对抑制剂或激活剂的特异反应和敏感程度以及在电场中移动速度、溶解度等很不相同,从而适应细胞代谢上的差异。例如,哺乳动物的骨骼肌与心脏、脑等器官的代谢不同,它们的乳酸脱氢酶(LDH)同工酶也不相同。骨骼肌中主要是LDH<sub>v</sub>,心肌和脑中主要是LDH<sub>i</sub>,虽然它们都催化丙酮酸 $\rightleftharpoons$ 乳酸的反应,但LDH<sub>v</sub>的最适作用物浓度对LDH<sub>i</sub>却起抑制作用,这与骨骼肌中产生大量乳酸,心、脑中则很少产生乳酸是相适应的。

同工酶的广泛存在,也是有机体代谢协调控制的必不可少的条件,特别是在共同或交叉的代谢途径中,同工酶往往起着重要的区分作用。例如,大肠杆菌的赖氨酸、甲硫氨酸和苏氨酸的合成代谢是从一

个共同的原料天门冬氨酸开始的,当氨基酸过多时不但能分别抑制各自的合成支路的第一个酶,而且当它们中任何一个过多时,都可能直接调节起始原料天门冬氨酸转化的第一步,即天门冬氨酸激酶催化反应,但并不影响其它两个氨基酸的合成。这是由于这步反应实际存在三个天门冬氨酸激酶同工酶,这三个酶都催化同一生化反应,但分别接受不同氨基酸的反馈调节,因而使细菌代谢能经济合理地协调地进行。

酶的化学本质是蛋白质。有些同工酶是由一条多肽链组成的,称为单体同工酶;有些同工酶是由多条多肽链组成的,称为多聚体同工酶,后者中每条多肽链叫做一个亚基,亚基相同的叫同聚体同工酶,亚基不相同的叫异聚体同工酶。

分子水平的探讨揭示了同工酶之间具有相同的或极相近的活性中心,但非活性中心部分的结构差异较大。相同或相似的活性中心决定它们能催化同一生化反应,而非活性中心部分的差异决定它们适应细胞代谢的差异和调控的需要。同工酶结构的这些特点,正如我们所熟知的木锯,木锯有手锯、拉锯、弓锯、带锯、园锯,排锯等多种,它们承担的共同工作是锯木头,决定它们能完成这种工作的基本结构是都有锯齿,但由于所锯木料不同,人们所要求的产品数量、形状的不同,就把锯制成不同类型,以适应其各自的功能。

分子生物学证明:生物体的性状决定于它的代谢,代谢决定于酶的催化反应,酶的一级结构即氨基酸的排列顺序主要决定于遗传物质DNA(脱氧核糖遇酸)的核苷酸排列顺序,决定一个多肽链的一般DNA称为结构基因,也就是DNA转录  
→  
mRNA翻译多肽链,而酶的空间结构主要  
→

决定个酶的一级结构,一般说来特定的氨基酸排列顺序产生特定的空间结构。

根据上述分析,同工酶是基因的产物,它与性状有一定的相关性,同工酶结构的差异,主要来源于基因的差异。这种基因的差异可能是多基因决定的,也可能从一个基因复制几个拷贝,每个拷贝可由于突变而产生差异,从而制造出与原来酶分子有所不同的酶分子;还可能是等位基因,非等位基因、同源等效异位基因,异源等效异位基因等决定的;此外还有一部分同工酶是在翻译后的修饰造成的,称为次生同工酶。除次生同工酶外,同工酶差异都是基因决定的,因此可以说同工酶是基因的直接产物。

研究同工酶的实验技术叫酶谱技术,即将含有同工酶的生物组织匀浆离心制备粗提液,然后用电泳、层析或免疫化学等方法分离同工酶,再用特异的组织化学显色法显示分离的同工酶。这种实验技术是Hunter及Markert1957年首先报导的,他们把淀粉凝胶电泳和组织化学染色法结合,成功地分析了酯酶、乳酸脱氢酶和其它几种同工酶。这种技术简便易行,对于多种同工酶有较强的分析能力,至今有许多改进。聚丙烯酰胺凝胶电泳(PAGE)成为同工酶分析不可缺少的技术。

由于同工酶在生物体内广泛存在,同工酶又是基因的直接产物,再加上其分析方法简便,因此很快在生物学各领域得以广泛应用。

在遗传育种方面,同工酶可做为基因功能的良好标志,对探讨远缘杂交、杂种优势、辐射育种的机理,揭示作物优良性状的遗传标志,鉴定真假杂交以及分析作物的育性、组织培养和体细胞杂交等方面的工作都具有广阔前景。我们在用同工酶分析研究番茄杂种优势机理和早期预测

时,通过对四个高优组合和一个低优组合的芽期过氧化物酶同工酶分析,初步看出在芽期两片子叶展开时,高优组合中的两亲本的酶谱扫描曲线在同一座标中表示,有多点交叉,而低优组合则很少交叉;高优组合 $F_1$ 酶活性总面积大于两个亲本,而低优组合 $F_1$ 酶活性总面积小于两个亲本。另外,我们在分析的国外配制杂优 $F_1$ 的80—A×80—B组合时,发现 $F_1$ 芽期呈现了父母双方的“互补带”,证明 $F_1$ 种子确为真杂交,达到了用同工酶方法鉴定真假杂交的目的。

在发育生物学方面,同工酶分析可作为个体生长发育分化的指标,在个体生长发育、器官分化过程中,同工酶谱型具有高度特异性,这种特异性反映了基因表达的变化,对研究细胞分化的基本机制是很有益的。我们通过对番茄11个组合,13个亲本的不同生育期、不同部位的过氧化物酶同工酶分析,表明不同生育期和植株不同部位显示的酶谱是不相同的,根和茎基显示谱带数比其它部位多,特征也明显,在生育进程中,酶谱带数目和酶含量时高时低,时多时少,呈波浪状发展,尤其在生育期的转化时期,酶谱带数目多,扫描峰高,谱型变化大,这些现象对于探讨过氧化物酶在植物体内的生理生化功能,酶活性的调节都是有帮助的。

在进化学上,同工酶对于在进化过程中新遗传信息的获得上具有关键性的重要意义,对现今生物的有关同工酶进行细致

的分子分析,可能发现在进化过程中已经发生的每一种演变方式。

在分类学上,同工酶谱的差异可以反映形态上难以辨认的差异,成为现代实验分类学的有力工具之一。

在医疗诊断方面,可用同工酶分析作为某些疾病早期诊断和鉴别诊断的新手段。对于研究某些疾病的发病机理也具有重要的实践意义和理论意义。

总之,同工酶的发现是人类对酶认识的一次飞跃。二十几年来,由于它在理论和应用方面具有重要的意义,有关研究工作迅速开展。1961、1966、1974年分别召开了三次国际同工酶会议,尤其是第三次会议,报告的内容更加广泛丰富。1974年以后,随着区带电容和层析技术的进展,特别是等电聚焦和亲和层析技术的应用,同工酶的研究也随之得到新的发展。仅就“生物学文摘”(BIOLOGICAL ABSTRACTS)上反映,1975—1980年间有关同工酶方面的研究报道就有上千篇。这些工作可分两个方面,一是同工酶的存在、提取、分离、分子结构和生理功能的研究,即同工酶的生物化学;二是同工酶在遗传、分类、进化、系统发育、生理及医疗诊断等领域的应用。无疑,对于同工酶的深入研究,将使生物学已有的学科——生物化学、酶学、生理学、细胞生物学、发育生物学以及遗传学等取得更大的进展。(文献略)