



新疆褐牛与安格斯牛胴体及肉质性状及脂代谢 相关基因表达差异比较

陈俐静¹, 陈卓¹, 李娜¹, 孙亚伟¹, 李红波², 宋雯雯¹, 张杨², 姚刚¹

(¹新疆农业大学动物医学学院, 乌鲁木齐 830052; ²新疆畜牧科学院畜牧研究所, 乌鲁木齐 830011)

摘要:【目的】探明新疆褐牛与国外优良品种安格斯牛产肉性能及肉品质差异、体脂代谢相关基因及其产物表达的品种间的差异性。【方法】选择相同饲养管理条件下 24 月龄新疆褐牛和安格斯牛进行屠宰试验, 测定其胴体性状和肉品质性状; 采集背最长肌和皮下脂肪, 采用石蜡切片技术观测脂肪组织和肌肉组织形态学差异; 利用实时荧光定量 PCR 检测脂肪酸合成酶(fatty acid synthetase, FAS)、脂肪酸结合蛋白 4(fatty acid-binding protein 4, FABP4)、激素敏感酯酶(hormone-sensitive lipase, HSL)、脂蛋白脂酶(lipoprotein lipase, LPL)和瘦素(Leptin, LEP)基因 mRNA 表达量; 采用蛋白免疫印迹(Western blot)测定 FAS、HSL、LPL 蛋白表达水平。【结果】1) 新疆褐牛净肉率极显著高于安格斯牛($P<0.01$), 而背膘厚度显著低于安格斯牛($P<0.05$)。其余所测定的胴体性状相关指标均无品种间差异($P>0.05$)。2) 新疆褐牛肉色 L* 显著低于安格斯牛($P<0.05$); 新疆褐牛平均肌纤维直径和横截面积均显著大于安格斯牛($P<0.05$); 新疆褐牛皮下脂肪组织单位面积脂肪细胞个数极显著多于安格斯牛($P<0.01$), 其余所测定的肉品质性状相关指标均无品种间差异($P>0.05$)。3) 新疆褐牛与安格斯牛背最长肌和皮下脂肪 FAS、FABP4、HSL、LPL、LEP 等 5 个基因 mRNA 表达量均差异不显著($P>0.05$); 新疆褐牛背最长肌组织中 FAS 蛋白表达量极显著低于安格斯牛($P<0.01$); HSL 蛋白表达量显著低于安格斯牛($P<0.05$); 新疆褐牛皮下脂肪组织中 HSL 蛋白表达量显著低于安格斯牛($P<0.05$)。【结论】研究发现新疆褐牛产肉性能较好; 但安格斯牛肉色较亮, 且嫩度较好, 体脂沉积能力较强。两品种间脂代谢相关基因产物 FAS 和 HSL 蛋白差异可能与安格斯肉牛背膘厚度差异有关。

关键词: 新疆褐牛; 安格斯牛; 屠宰性状; 肉品质; 脂代谢相关基因

Comparison of the Carcass and Beef Quality Traits with the Expression of the Lipid Metabolism Related Genes Between Xinjiang Brown Cattle and Angus Beef Cattle

CHEN LiJing¹, CHEN Zhuo¹, LI Na¹, SUN YaWei¹, LI HongBo², SONG WenWen¹, ZHANG Yang², YAO Gang¹

(¹College of Veterinary Medicine, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052; ²Institute of Animal Science Research, Xinjiang Academy of Animal Sciences, Urumqi 830011)

Abstract: 【Objective】The aim of this study was to investigate the differences of carcass, meat quality traits, the expression of their lipid metabolism related genes and the products between Xinjiang brown cattle (XBC) and Angus beef cattle (ABC). 【Method】Twenty-four-month-old XBC and ABC raised under the same condition were used to do the slaughter experiment with the measurement of carcass traits. *Longissimus dorsi* and subcutaneous fat tissue samples were collected to evaluate the meat quality

收稿日期: 2019-12-11; 接受日期: 2020-05-29

基金项目: 国家自然科学基金地区项目(31460647)、新疆自治区重点研发计划(2017B01001-2)、国家肉牛牦牛产业技术体系(CARS37)

联系方式: 陈俐静, E-mail: 875247408@qq.com。通信作者姚刚, E-mail: yaogang516@163.com。通信作者张杨, E-mail: zhyang1962@126.com

traits. The expression of the gene's mRNA of leptin (LEP), fatty acid synthase (FAS), fatty acid-binding protein 4 (FABP4), hormone-sensitive triglyceride lipase (HSL), lipoprotein lipase (LPL) and their products were detected by real-time fluorescent quantitative PCR and western blot techniques. 【Result】 1. The net meat rate of XBC was significantly higher than that of ABC ($P<0.01$), while the backfat thickness was significantly lower than that of ABC ($P<0.05$), and there was no significant difference in other carcass traits ($P>0.05$). 2. XBC beef color L^* was significantly lower than ABC ($P<0.05$); the average muscle fiber diameter and cross-sectional area of XBC were significantly higher than that of ABC ($P<0.05$); the number of fat cells per unit area of XBC was extremely higher than that of ABC ($P<0.01$), and there was no significant difference in other meat quality traits ($P>0.05$). 3. No significant differences in the expression levels of *FAS*, *FABP4*, *HSL*, *LPL* and *LEP* in *longissimus dorsi* and subcutaneous fat were found between XBC and ABC ($P>0.05$). However, the protein expression of FAS in longissimus dorsi of XBC was extremely lower than that of ABC ($P<0.01$), HSL protein was significantly lower than that of ABC ($P<0.05$). And the protein expression of HSL in subcutaneous fat in XBC was significantly lower than that of ABC ($P<0.05$). 【Conclusion】 It was suggested that the meat producibility of XBC was better than that of ABC, but ABC had brighter meat color and finer meat fiber with stronger fat depositing potential. The differences in the expression of lipid metabolism-related gene products FAS and HSL between the two breeds might have association with backfat thickness.

Key words: Xinjiang brown cattle; Angus beef cattle; slaughter traits; meat quality; lipid metabolism related genes

0 引言

【研究意义】肉牛养殖业是新疆畜牧业主导产业, 新疆褐牛及其杂交牛是新疆肉牛业主导品种之一。目前, 新疆褐牛及其杂种后代总存栏数约为 150 万头, 纯种新疆褐牛占总数的 30% 左右^[1]。随着人们生活质量的提高, 牛肉作为重要的肉食品, 优质、高档牛肉供不应求^[2-3]。牛肉的食用品质主要包括嫩度、多汁性和风味^[4]。而影响畜肉品质的因素有很多, 其中肌肉脂肪 (intramuscular fat, IMF), 又称为大理石花纹, 其含量会影响牛肉的食用品质^[5-6]。高水平的 IMF 含量很可能会增加油脂含量和肌红蛋白的氧化^[7], 进而影响肉色。适当地提高 IMF 含量, 可以提高肌肉的嫩度、多汁性等食用品质^[8]。因此, 调控 IMF 的沉积成为提高肉品质的一个重要途径^[9]。【前人研究进展】瘦素 (leptin, LEP) 基因多态性已经被作为肉牛的大理石纹、背膘厚度、嫩度、胴体重、牛肉质量评价等性状的候选基因^[10]。SCHENKEL 等^[11]研究发现肉牛产肉率、背膘厚度和嫩度与 LEP 基因显著相关。说明 LEP 可作为评定肉品质及肉质脂肪沉积的指标。脂肪酸合成酶 (fatty acid synthase, FAS) 在脂肪代谢中主要作用是合成长链脂肪酸, 而激素敏感酯酶 (hormone-sensitive lipase, HSL) 则是脂肪分解的关键限速酶^[12]。FAS、HSL 和脂蛋白脂酶 (lipoprotein lipase, LPL) 基因 mRNA 表达与皮下脂肪、IMF 沉积存在密切相关^[13-14]。HILLER 等^[13]研究发现 FAS、LPL 和 HSL 基因 mRNA 表达与皮下脂肪、IMF 沉积存在密切相关。JEONG 等^[14]研究了韩国肉牛 16 个脂肪代

谢相关基因, 证明 FAS、LPL 和 HSL 基因表达与 IMF 代谢均呈显著相关, 其中 LPL 基因上调可增加脂肪细胞膜对脂肪酸的摄取, 从而增加 IMF 沉积。脂肪酸结合蛋白 4 (fatty acid-binding protein 4, FABP4) 是脂肪细胞型脂肪酸结合蛋白, 能在脂肪细胞中沉积甘油三酯, 增加 IMF 的含量。FABP4 基因与肉牛 IMF 沉积、大理石纹形成密切相关^[15-17]。【本研究切入点】由于新疆褐牛遗传背景复杂, 其 IMF 沉积能力、大理石纹含量、嫩度等与脂肪代谢相关的肉品质形成机理等方面缺乏与国内外优良肉牛品种的比较研究。【拟解决的关键问题】本试验选取新疆褐牛与安格斯肉牛进行屠宰性状、肉品质及其脂代谢相关基因的比较研究, 探明新疆褐牛与安格斯肉牛上述关键脂代谢基因 mRNA 和蛋白表达的脂肪组织和品种差异性, 为今后改善新疆褐牛的肉品质性状奠定科学基础。

1 材料与方法

1.1 试验动物

本研究动物饲养试验在新疆某集约化肉牛养殖场进行。2016 年 12 月选取生长发育正常、健康, 品种特征明显的新疆褐牛 (Xinjiang brown cattle, XBC) 和纯种安格斯牛 (Angus beef cattle, ABC) 3 月龄断奶公犊各 7 头, 单独分栏组群, 专人负责, 按照该场统一饲养管理方式饲养, 于 2018 年 9 月达到 24 月龄后进行屠宰。

1.2 仪器设备与试剂

仪器设备: 背膘测定仪 (Mylab Touch vet); 显

显微镜(NIKON);电热恒温鼓风干燥箱(DHG-9140A);半自动切片机(LEICA CM3050 S);Motic 显微成像系统(Advance 3.5 软件);光学显微镜 BA400 (Motic 实业集团有限公司);离心机 5415D (Eppendorf);PCR 仪 PTC-225 (Bio-Rad);凝胶成像系统 CBC/UVPI-D001 (CapitalBio);实时荧光定量 PCR 仪 (Applied Biosystems);超声波细胞破碎仪 JY92-2D (宁波新芝生物科技股份有限公司);立式压力蒸汽灭菌器 LDZX-30KBS (上海申安医疗器械厂);恒温培养振荡器 TS-2102C (上海智城分析仪器制造有限公司);酶标仪 DG5031 (上海齐欣有限公司)。

试剂:苦味酸购自台山粤桥试剂有限公司;固体石蜡、苏木素、尹红、中性树胶均购自中国上海标本模型厂;mirVana miRNA Isolation Kit、r-Taq 酶、cDNA 第一链合成试剂盒、SYBR Green PCR Master Mix、Micro Amp Optical 96-well Reaction Plate、Micro Amp Optical Adhesive Covers 4311971 均购自 abm (Master Mix-EL) 公司;RIPA 裂解液、BCA 蛋白定量试剂盒、蛋白变性缓冲液、SDS-PAGE 凝胶试剂盒、化学发光显色液均购自 Thermo Fisher 公司;小鼠抗 beta-actin 单克隆抗体 ab6276、小鼠抗 LPL 单克隆抗体 ab21356、辣根过氧化物酶标记山羊抗小鼠 ab97240 均购自 Abcam 公司;大鼠抗 FAS 单克隆抗体 05-351 购自 Merck Millipore 公司;兔抗 HSL 单克隆抗体 NBP1-76735 购自 Novus 公司;辣根过氧化物酶标记山羊抗大鼠 abs20031 购自 Absin 公司;辣根过氧化物酶标记山羊抗兔 111-305-003 购自 Jackson 公司。

1.3 方法

1.3.1 采样 前述 24 月龄 XBC 和 ABC 各 7 头试验牛在屠宰前一天,采用背膘仪活体测定背膘厚度、眼肌面积和肌肉脂肪参数,并进行活体称重,记录耳标号。试验牛经待宰圈 12 h 禁食后,进入屠宰车间自动化屠宰,测定胴体及产肉性状。并采集背最长肌和皮下脂肪等相关样品液氮保存后于实验室进行后续指标测定。

1.3.2 胴体性状

胴体重:除去头、皮、尾、蹄、内脏所余体躯重量;

净肉重:胴体除去骨骼之后的净肉和脂肪的重量;

屠宰率=胴体重/活重 $\times 100\%$;

净肉率=净肉重/活重 $\times 100\%$;

肉骨比=胴体净肉重/骨骼重 $\times 100\%$ 。

用背膘仪测量肌间脂肪、背膘厚度、眼肌面积。

1.3.3 肉品质性状 利用色度仪对每块背最长肌测定肉色,分别记录肉样的亮度(L*)值、红度(a*)值和黄度(b*)值;IMF 根据《食品中脂肪的测定》(GB 5009.6—2016)测定;水分根据《食品中水分的测定》(GB 2019.3—2016)测定;灰分根据《食品中灰分的测定》(GB 5009.4—2016)测定;剪切力根据《肉嫩度的测定 剪切力测定法》(NY/T 1180—2006)测定。

1.3.4 肌肉及皮下脂肪形态学测定 肌肉及皮下脂肪制备常规石蜡切片,HE 染色^[18]。利用 Motic Advanced 3.5 显微成像系统观察并测量肌肉及皮下脂肪,借助 FastStone Capture 软件^[19]计算细胞单位面积及数量。

1.3.5 脂代谢相关基因的 mRNA 表达

(1) 组织样本总 RNA 提取

1)在液氮预冷砂浆中取 30—50 mg 最长的肌肉样品,充分研磨成液氮,加入 1 mL Trizol,混匀后冰上静置 5 min 裂解并转入新 EP 管。

2)加入 0.2 mL 预冷过的氯仿,混匀 15—30 s,冰上静置 2—3 min。

3)4℃离心,12 000 g $\times 15$ min,分层。

4)吸清液 400—500 μ L 并加入 0.5 mL 异丙醇,将管中液体轻轻混匀,-80℃静置 30 min。

5)4℃离心,12 000 g $\times 15$ min。

6)弃上清,加入 75%乙醇(冰冷)1 mL,振荡,4℃离心,12 000 g $\times 5$ min。

7)弃上清,短暂离心,弃剩余上清。

8)加入适量(20—30 μ L)DEPC (Rnase Free) H₂O 溶解 RNA,测浓度,储存-80℃。

(2) 基因组消化和反转录 基因组消化的反应体系:1 μ g 总 RNA,2 μ L 5 \times gDNA buffer,42℃、3 min。

反转录用 cDNA 第一条链合成试剂盒反转录 1 μ g 总 RNA 成 cDNA,反应体系:2 μ L 10 \times Fast-RT Buffer,2 μ L FQ-RT Primer Mix,1 μ L RT Enzyme Mix,5 μ L RNase-Free Water,加入消化产物总体积 20 μ L,反应条件:42℃、15 min,95℃、3 min,-80℃保存。

(3) 荧光定量 PCR 引物 使用 DNAMAN 软件设计引物^[20],由生工生物工程(上海)股份有限公司合成,信息见表 1。

(4) 检测 LEP、FAS、FABP4、HSL、LPL 基因转录水平测定 利用 Power SYBR Green PCR Master Mix 试剂盒和 Quant Studio Flex Real Time PCR system 仪器进行相对定量。反应体系如表 2。

表 1 引物信息

Table 1 Primer information		
基因名称	序列 5'-3'	产物大小
Gene name	Sequence	Product size(bp)
LEP	F: CTTCAGTGGATGGTCCCTCG	148
	R: AATGGCAGGTTGGTGGGAAA	
FAS	F: TGAGACAGACCCGAAGTCCT	127
	R: CTCCTCGGGCTTGCTCTTGTT	
FABF4	F: AGATGGTGCTGGAATGTGTCA	103
	R: GGAGTTTCGATGCAAACGTCA	
HSL	F: AGAGTGCTTCTATGCCTACTGC	117
	R: GACACGGTGAAGCAGAGGTTC	
LPL	F: CCCGGCTTTGATATTGGAAG	142
	R: TCAGGGACTTGTCATGGCATT	
Beta-actin	F: CATGTACGTTGCTATCCAGGC	250
	R: CTCCTTAATGTCACGCACGAT	

F:上游引物, R:下游引物 F: Forward primer, R: Reverse primer

表 2 荧光定量 PCR 反应体系

Table 2 RT-PCR reaction system	
试剂 Reagent	剂量 Dose
Power SYBR Green PCR Master Mix (2×)	5 μL
cDNA	0.5 μL
正向引物 Forward primer	0.25 μL
反向引物 Reverse primer	0.25 μL
无酶水 RNase free dH ₂ O	4 μL
总容积 Total volume	10 μL

反应条件: 95℃预变性 10 min, 95℃、15 s、95℃、1 min, 40 个循环。每个试验组设定 3 个重复, 扩增结束用 ABI 7500 Fast 软件收集 CT 值并用 2^{-ΔΔCT} 分析目的基因表达水平, 用内参基因 Beta-actin 矫正。

(5) 实时荧光定量 PCR 产物电泳检测扩增特异性
取扩增产物 4 μL 与 4 μL 2×Loading buffer 混匀, 电泳条件为 120 V, 15 min。

1.3.6 肌肉与皮下脂肪组织 Western blot 测定

(1) 提取总蛋白方法参照 RIPA 裂解液说明书进行。

(2) 用酶标板法测定蛋白浓度, 操作参照 BCA 蛋白定量试剂说明书进行。

(3) 制胶槽灌入分离胶, 无水乙醇压平胶平面, 待分离胶凝固后加入浓缩胶。凝固后每孔加 40 mg 蛋

白, 电压 80 V, 待蛋白跑过浓缩胶将电压调成 120 V, 直到溴酚蓝指示剂跑至分离胶底部。

(4) 取电泳分离条带, 参照蛋白 Marker 切下目的基因和内参条带。按照滤纸、凝胶、PVDF 膜、滤纸的顺序, 每层之间不能有气泡。确保正负极连接正确, 电压 120 V 开始转膜。

(5) 将 PVDF 膜放入 5%脱脂奶粉室温封闭 2 h。封闭后 PVDF 膜用 TBST 缓冲液浸洗 3 次, 每次 5 min, 分别加入第一抗体 (均按 1 : 1 000 稀释) 置于脱色摇床 4℃孵育过夜。次日取出 PVDF 膜用 TBST 缓冲液浸洗 5 次, 每次 5 min, 加入辣根过氧化物酶标记的第二抗体 (均按 1 : 1 000 稀释), 置于脱色摇床室温孵育 2 h。

(6) 按照 ECL 显色液说明书配制显色液, 避光显色 1 min, 用化学发光凝胶系统曝光后, 确定最佳曝光条件、采集图像。用 Image J 软件处理目的条带, 计算灰度值, 以 Beta-actin 为管家基因计算目的条带的相对表达量。

1.4 数据处理

数据用平均值±标准误 (Mean±SE) 表示。采用 GraphPad Prism 5.0 (GraphPad Software 公司, 美国圣地亚哥) 统计软件对两品种间进行独立样本非配对 T 检验统计分析并作图。两组间不同小写字母表示 $P<0.05$, 不同大写字母表示 $P<0.01$ 。

2 结果

2.1 XBC 和 ABC 胴体性状比较

由表 3 可见, XBC 净肉率极显著高于 ABC ($P<0.01$), 而背膘厚度显著低于 ABC ($P<0.05$)。XBC 与 ABC 体重、胴体重、净肉重、骨重、屠宰率、肉骨比、肌间脂肪等胴体性状品种间无显著差异 ($P>0.05$)。

2.2 XBC 和 ABC 肉质性状比较

由表 4 可见, XBC 肉色亮度 L*显著低于 ABC ($P<0.05$), XBC 肉色泽偏暗, 其余肉色 a*、b*均差异不显著 ($P>0.05$)。XBC 与 ABC 水分、灰分、IMF、嫩度均差异不显著 ($P>0.05$)。

2.3 XBC 和 ABC 背最长肌及皮下脂肪组织形态比较

由表 5、图 1 所示, XBC 肌纤维直径和单根肌纤维横截面积均显著大于 ABC ($P<0.05$), 而肌纤维密度无明显差异 ($P>0.05$)。由表 6、图 2 所示, XBC 皮下脂肪单位面积脂肪细胞个数极显著多于 ABC ($P<0.01$), 而皮下脂肪细胞面积两品种牛之间差异不显著 ($P>0.05$)。

表 3 XBC 和 ABC 胴体性状比较

Table 3 Comparison of carcass traits between XBC and ABC

性状 Traits	单位 Unit	XBC	ABC	P 值 P value
活体重 Body weight	kg	704.0±29.90	798.0±33.60	0.077
胴体重 Carcass weight	kg	423.0±15.60	459.0±28.60	0.306
净肉重 Net meat weight	kg	320.0±11.40	300.0±23.90	0.464
骨重 Bone weight	kg	69.7±3.96	75.6±2.73	0.251
屠宰率 Slaughter rate	%	60.3±2.28	59.4±0.41	0.735
净肉率 Net meat rate	%	45.6±1.50A	39.9±0.60B	0.010
肉骨比 Meat bone ratio	%	4.6±0.18	4.0±0.31	0.097
肌间脂肪 Intermuscular fat	%	6.98±1.36	8.8±0.84	0.278
背膘厚度 Backfat thickness	cm	1.0±0.10a	1.7±0.22b	0.021
眼肌面积 Loin eye muscle area	cm ²	92.7±3.09	98.1±3.35	0.261

同行数据 (XBC-ABC) 进行 T-检验, 标小写字母不同, 表示 $P<0.05$, 组间差异显著; 标大写字母不同, 表示 $P<0.01$, 组间差异极显著。下同
Data in the same row was compared by student-T test, the different small letters represent $P<0.05$, indicating significant difference between XBC and ABC, the different capital letters represent $P<0.01$, indicating extremely significant difference between XBC and ABC. The same as below

表 4 XBC 和 ABC 部分肉品质性状比较

Table 4 Comparison of meat quality traits between XBC and ABC

性状 Traits	单位 Unit	XBC	ABC	P 值 P value
肉色 L*值 Meat Color-L*	-	28.69±2.06a	31.43±2.15b	0.032
肉色 a*值 Meat Color-a*	-	11.99±5.87	15.91±3.29	0.149
肉色 b*值 Meat Color-b*	-	3.64±1.86	4.60±1.37	0.296
灰分 Ash	%	1.56±0.78	1.05±0.27	0.131
水分 Muscle moisture	%	74.20±2.61	73.2±2.69	0.505
肌肉脂肪 Intramuscular fat	%	1.80±0.37	1.81±0.17	0.993
嫩度 Tenderness	N	5.65±1.52	5.78±1.91	0.922

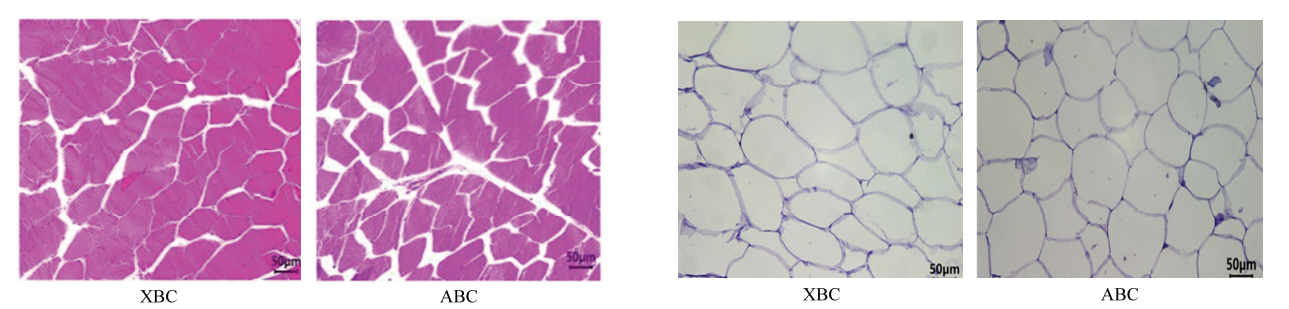


图 1 XBC 与 ABC 背最长肌断面, H. E 染色 (10×20)
Fig. 1 Slice of *longissimus dorsi* in XBC and ABC, H.E stain (10×20)

图 2 XBC 与 ABC 皮下脂肪切片, H. E 染色 (10×20)
Fig. 2 Slice of the subcutaneous fats in XBC and ABC, H.E stain (10×20)

2. 4 XBC 和 ABC 背最长肌和皮下脂肪组织中脂代谢相关基因的 mRNA 表达

由图 3 可知, XBC 与 ABC 背最长肌和皮下脂肪 5 个基因 mRNA 表达量差异不显著 ($P>0.05$)。

2. 5 XBC 和 ABC FAS、HSL、LPL 蛋白在背最长肌和皮下脂肪组织中的表达差异

如图 4 所示, 利用 Western blot 检测 XBC 与 ABC 背最长肌和皮下脂肪组织中 LEP、FABP4、HSL、LPL、

表 5 XBC 和 ABC 背最长肌肌纤维组织学测量

Table 5 Histological measurement results of *longissimus dorsi* in XBC and ABC

	单位 Unit	XBC	ABC	P 值 P value
肌纤维直径 Muscle fiber diameter	μm	41.52±0.42a	32.86±0.24b	0.024
肌纤维密度 Muscle fiber density	Number/mm ²	236.95±45.34	291.21±24.66	0.260
单根肌纤维横截面积 Single muscle fiber cross-sectional area	μm ²	1495.02±31.92a	921.81±14.14b	0.033

表 6 XBC 和 ABC 皮下脂肪组织细胞面积和数量比较

Table 6 Comparison of the cell area and the quantity of adipose tissue between XBC and ABC

	单位 Unit	XBC	ABC	P 值 P value
细胞面积 Adipocyte area	μm ²	2012.15±532.54	2154.29±389.64	0.1520
细胞个数 Adipocyte number	Number/mm ²	365.42±100.23A	306.48±60.91B	0.0011

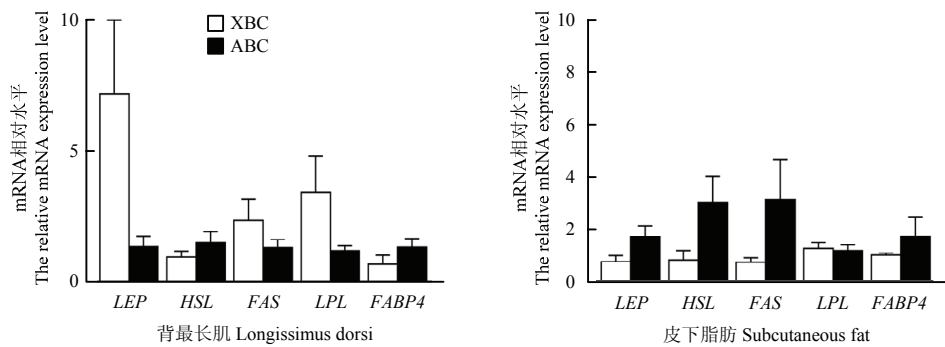


图 3 两品种牛背最长肌与皮下脂肪中 LEP、HSL、LPL、FAS、FABP4 基因 mRNA 相对表达量

Fig. 3 The mRNA expression levels of LEP, HSL, LPL, FAS and FABP4 gene in *longissimus dorsi* and subcutaneous fat between XBC and ABC

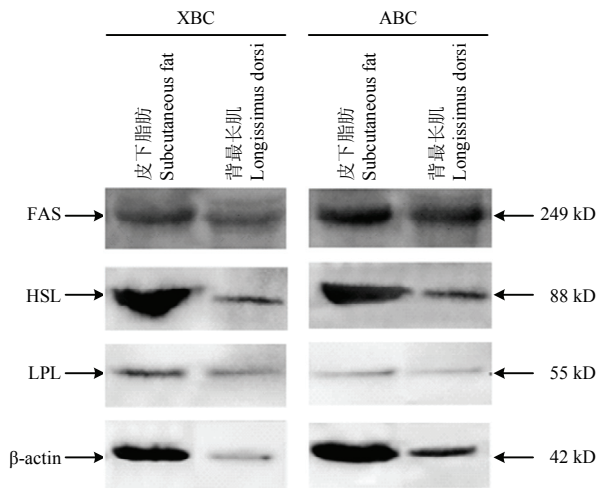


图 4 Western blot 检测 FAS、HSL、LPL 蛋白的表达水平

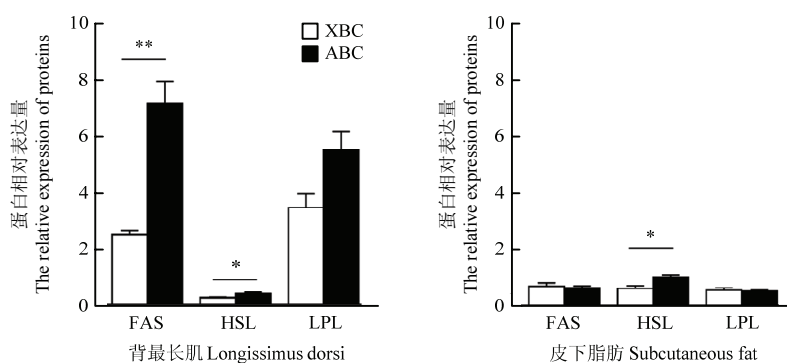
Fig. 4 The expression level of FAS, HSL and LPL proteins detected by Western blot

FAS 蛋白表达水平，只检测到 FAS、HSL、LPL 蛋白表达，与预期条带一致。由图 5 可知，XBC 背最长肌组织中 FAS 的蛋白表达量极显著低于 ABC ($P<0.01$)，HSL 蛋白表达量也显著低于 ABC ($P<0.05$)；而皮下脂肪组织中只有 HSL 蛋白表达量显著低于 ABC ($P<0.05$)。

3 讨论

3.1 XBC 和 ABC 胴体性状比较

胴体性状是评价肉牛产肉性能的重要指标。张明^[21]比较了安西杂牛（黑安格斯牛×西门塔尔牛）与西门塔尔牛净肉率和背膘厚度，结果显示安西杂牛的净肉率和背膘厚度显著高于西门塔尔牛，并且表明安西杂牛产肉性能较好。本研究发现 XBC 净肉率极显著高于 ABC，而背膘厚度显著低于 ABC。说明不同品种牛之间胴体性状确实存在差异，XBC 产肉性能较好。



两品种间进行 T-检验, *表示 $P<0.05$, 差异显著, **表示 $P<0.01$, 差异极显著

The student T-test was conducted between XBC and ABC, * means $P<0.05$, indicating significant difference, while ** means $P<0.01$, indicating extremely significant difference between XBC and ABC

图 5 XBC 和 ABC 背最长肌与皮下脂肪中 FAS、HSL、LPL 蛋白相对表达量比较

Fig. 5 The differential expression level of FAS, HSL and LPL proteins in *longissimus dorsi* and subcutaneous fat between XBC and ABC

王国富等^[22]比较了 36 月龄 ABC、海福特牛和中国西门塔尔牛 3 个品种牛的胴体性状, 结果显示 ABC 和海福特牛背膘厚度极显著高于中国西门塔尔牛, 并说明 ABC 和海福特牛脂肪沉积能力可能比中国西门塔尔品种牛强。本研究发现 XBC 背膘厚度显著低于 ABC, 说明 ABC 的脂肪沉积能力可能较强。

3.2 XBC 和 ABC 肉质性状

肉质是涉及肉品的表现、质地、风味的综合性状, 主要衡量指标包括肉色、风味物质、大理石花纹、嫩度、硬度、多汁性以及 pH、系水力、肌肉纤维结构等^[23-25]。胡猛等^[26]比较了荷斯坦公牛与西门塔尔牛、XBC 及新疆土种牛的肉色, 结果显示荷斯坦公牛的肉色 L*显著高于西门塔尔牛、XBC 和新疆土种牛。闫向民等^[27]比较了不同月龄 XBC 的肉色, 发现高月龄组肉色 L*显著小于低月龄组, 且高月龄组肉色优于低月龄组。本研究发现 XBC 肉色指标 L*显著低于 ABC, 说明 XBC 肉色优于 ABC。

肌纤维特性影响肉的嫩度, 肌纤维直径越小, 纤维密度越大, 则肉的嫩度越好。曹芝等^[28]研究了草原红牛及夏洛莱牛、西门塔尔牛、红安格斯牛的高代杂种牛背最长肌纤维组织学结构的差异及与嫩度的关系, 结果显示红安格斯杂交牛的肌纤维直径最小, 肌节长度最长, 说明其嫩度最好。本研究结果显示 XBC 肌纤维直径和单根肌纤维横截面积均显著大于 ABC, 提示与 XBC 相比, ABC 嫩度较好。

脂肪组织的形成和在不同部位的沉积直接影响肉品质和产肉性能, 细胞大小与大理石花纹密切相关^[29]。

ALBRECHT 等^[30]研究表明 11 月龄以后牛的脂肪细胞数量相对稳定, 脂肪细胞的沉积主要是由于脂肪细胞体积的增大。本结果显示 XBC 与 ABC 皮下脂肪组织细胞面积无显著差异, 可 XBC 皮下脂肪组织中单位面积脂肪细胞个数极显著多于 ABC, 提示 XBC 脂肪组织细腻程度高于 ABC, 这可能与 XBC 背膘厚度显著低于 ABC 有关。

3.3 XBC 和 ABC 5 种脂肪代谢调控相关基因及其产物的表达

大量研究表明, *LEP* 可以促进甘油三酯转化, 抑制脂肪酸从头合成、刺激脂肪酸氧化来抑制脂质在脂肪细胞中积累, 因此 *LEP* 与肌肉脂肪的沉积有关。BONNET 等^[10]比较了 ABC、利木赞牛、日本和牛与安格斯杂交牛 3 个品种肌肉脂肪 *LEP* 基因 mRNA 表达水平, 结果表明 3 个品种皮下脂肪组织中 *LEP* 基因 mRNA 表达差异不显著。而 *FABP4* 也是影响牛肉和肌肉脂肪含量的候选基因之一^[31]。魏胜娟等^[32]研究 *FABP4* 对牛脂肪细胞分化影响时发现 *FABP4* 正向调控脂质代谢。ALBRECHT 等^[30]连续检测了 10—22 月龄日本和牛与荷斯坦牛皮下脂肪组织中 *FABP4* mRNA 表达水平, 结果表明这一阶段这两个品种牛皮下脂肪组织中 *FABP4* 表达没有变化。*FAS* 作为甘油三酯合成过程的关键酶, *FAS* 基因表达水平的高低对肌肉脂肪的沉积会产生一定的影响。曲桂娟等^[33]比较了 3 种杂交牛背最长肌 *FAS* mRNA 表达量, 发现在 3 个品种间 *FAS* mRNA 表达差异不显著。本试验测定结果显示 XBC 与 ABC 皮下脂肪与背最长肌中 *LEP*

mRNA、*FABP4* mRNA 和 *FAS* mRNA 表达均无品种间显著差异,这可能与本试验测定的 XBC 和 ABC 肌肉内脂肪含量无显著差异有关。但戢爽^[34]在比较延边黄牛和延黄牛 *FAS* mRNA 表达中发现延黄牛显著高于延边黄牛的结果与前述研究者和笔者的结果不一致,可能是因为品种差异所致。

脂肪沉积是一个合成与分解动态平衡过程, HSL 基因和 LPL 基因在脂肪分解过程起关键作用。REN 等^[35]报道在荷斯坦与夏洛来牛网膜脂肪和皮下脂肪组织中 *LPL* mRNA 表达差异不显著,但未研究肌肉中的 *LPL* mRNA 表达。本结果表明 XBC 与 ABC 皮下脂肪中 *LPL* mRNA 表达差异不显著,与上述结果相似。

3.4 XBC 和 ABC 5 种脂肪代谢调控相关蛋白表达

赵称赫^[36]研究表明蒙古牛肌肉内 *FAS* 的活性相对较强。其实验结果表明蒙古牛背最长肌 *FAS* 表达量显著高于西门塔尔, *FAS* 表达量与肌肉内脂肪含量存在正相关。本结果与上述研究结果一致。本试验发现 XBC 背最长肌组织中 *FAS* 蛋白表达量极显著低于 ABC, 可能与 XBC 背膘厚度显著低于 ABC 有关,其相关性有待进一步研究。

HSL 是动物脂肪代谢过程中的关键酶。有研究表明 HSL 与肌肉内脂肪含量存在正相关,并且会促进肌肉内脂肪的沉积^[37]。本结果表明 XBC 皮下脂肪组织中 HSL 蛋白表达量显著低于 ABC, 背最长肌组织中 HSL 蛋白表达量显著低于安格斯牛,说明 ABC 脂肪沉积能力高于 XBC。

LPL 在脂蛋白的运输过程和能量代谢方面发挥着重要作用。BONNET 等^[10]报道利木赞牛皮下脂肪中 *LPL* 表达水平显著高于安格斯,指出 *LPL* 表达可能存在种间差异性。王刚等^[38]也验证猪肌肉组织中 *LPL* 表达与肌肉内脂肪含量显著正相关,且品种不同其 *LPL* 与肌肉内脂肪含量相关程度不同。本结果表明 XBC 与 ABC *LPL* 在皮下脂肪和背最长肌表达差异不显著。

FAS 和 HSL 分别为胴体脂肪合成代谢与分解代谢过程中的限速酶。在本试验中 ABC 在皮下脂肪和背最长肌中 *FAS*、HSL 蛋白表达均显著高于 XBC。说明 ABC 脂肪沉积能力强。

4 结论

本研究比较发现新疆褐牛产肉性能较好;但纯种安格斯牛肉色较亮,且嫩度较好。纯种安格斯牛脂肪沉积能力强。两品种间脂代谢相关基因产物、脂肪酸

合成酶和激素敏感酯酶蛋白差异可能与纯种安格斯牛背膘厚度差异有关。

References

- [1] 周靖航, 李鹏, 刘丽元, 赵国丽, 黄锡霞, 乃比江, 夏热普·居马衣, 谈锐, 史远刚. 新疆褐牛种质资源现状与群体遗传改良建议. 中国畜牧杂志, 2017, 53(8): 38-43.
ZHOU J H, LI P, LIU L Y, ZHAO G L, HUANG X X, NAI B J, XIAREP-JU MAYI, TAN R, SHI Y G. Status of Xinjiang Brown Cattle Germplasm Resources and Suggestions for Population Genetic Improvement. *Chinese Journal of Animal Science*, 2017, 53(8): 38-43. (in Chinese)
- [2] 咎林森, 梅楚刚, 王洪程. 我国肉牛产业经济发展形势及对策建议. 西北农林科技大学学报(社会科学版), 2015, 15(6): 48-52.
ZAN L S, MEI C G, WANG H C. Economic situation and countermeasures of beef cattle industry in China. *Journal of Northwest A&F University (Social Science Edition)*, 2015, 15(6): 48-52. (in Chinese)
- [3] 李劲, 孙有江. 高档牛肉生产技术探讨. 中国畜牧业, 2014(21): 81-82.
LI J, SUN Y J. Discussion on production technology of high-grade beef. *China Animal Industry*, 2014(21): 81-82. (in Chinese)
- [4] GONZALEZ J M, PHELPS K J. United States beef quality as chronicled by the National Beef Quality Audits, Beef Consumer Satisfaction Projects, and National Beef Tenderness Surveys-A review. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 2018, 31(7): 1036-1042.
- [5] COSTA ANA S H, LOPES PAULA A, ESTEVAO M, MARTINS S V, ALVES S P, PINTO R A, PISSARRA H, CORREIA J J, PINHO M, FONTES C M G A, PRATES J A M. Contrasting cellularity and fatty acid composition in fat depots from Alentejana and Barrosa bovine breeds fed high and low forage diets. *International Journal of Biological Sciences*, 2012, 8(2): 214-227.
- [6] 姜贝贝. 过瘤胃甜菜碱对湖羊生长性能和体脂肪沉积调控的研究[D]. 扬州: 扬州大学, 2017.
JIANG B B. Regulation function of rumen protected betaine on growth performance and body fat deposition of Hu lambs[D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2017. (in Chinese)
- [7] FAUSTMAN C, SUN Q, MANCINI R, MANCINI R, SUMAN S P. Myoglobin and lipid oxidation interactions: mechanistic bases and control. *Meat Science*, 2010, 86(1): 86-94.
- [8] REARDON W, MULLEN A M, SWEENEY T, HAMILL R M. Association of polymorphisms in candidate genes with color, water-

- holding capacity, and composition traits in bovine M. Longissimus and M. semimembranosus. *Meat Science*, 2010, 86(2): 270-275.
- [9] 顾悦, 张保军, 高爱武. 家畜肌肉脂肪沉积过程相关基因研究进展. 食品与发酵工业, 2014, 40(8): 159-162.
- GU Y, ZHANG B J, GAO A W. Research progress of genes related to intramuscular fat deposition in livestock. *Food and Fermentation Industries*, 2014, 40(8): 159-162. (in Chinese)
- [10] BONNET M, FAULCONNIER Y, LEROUX C, JURIE C, CASSAR-MALEK I, BAUCHART D, BOULESTEIX P, PETHICK D, HOCQUETTE J F, CHILLIARD Y. Glucose-6-phosphate dehydrogenase and leptin are related to marbling differences among Limousin and Angus or Japanese Black \times Angus steers. *Journal of Animal Science*, 2007(85): 2882-2894.
- [11] SHENKEL F S, MILLER S P, YE X, MOORE S S, NKRUMAH J D, LI C, YU J, MANDELL I B, WILTON J W, WILLIAMS J L. Association of single nucleotide polymorphisms in the leptin gene with carcass and meat quality traits of beef cattle. *Journal of animal science*, 2005, 83(9): 2009-2020.
- [12] HUANG H L, ZHANG Y, CAO M Y, XUE L U, SHEN W L. Effects of fasting on the activities and mRNA expression levels of lipoprotein lipase (LPL), hormone-sensitive lipase (HSL) and fatty acid synthetase (FAS) in spotted seabass *Lateolabrax maculatus*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2018, 44(1): 387-400.
- [13] HILLER B, HERDMANN A, NUERNBERG K. Dietary n-3 fatty acids significantly suppress lipogenesis in bovine muscle and adipose tissue: a functional genomics approach. *Lipids*, 2011, 46(7): 557-567.
- [14] JEONG J, KWON E G, IM S K, SEO K S, BAIL M. Expression of fat deposition and fat removal genes is associated with intramuscular fat content in longissimus dorsi muscle of Korean cattle steers. *Journal of Animal Science*, 2012, 90(6): 2044-2053.
- [15] PANNIER L, MULLEN A M, HAMILL R M, STAPLETON P C, SWEENEY T. Association analysis of single nucleotide polymorphisms in *DGAT1*, *TG* and *FABP4* genes and intramuscular fat in crossbred Bos Taurus cattle. *Meat Science*, 2010, 85(3): 515-518.
- [16] LEHNERT S A, REVETER A, BYRNE K A, WANG Y H, NATTRASS G S, HUDSON N J, GREENWOOD P L. Gene expression studies of developing bovine longissimus muscle from two different beef cattle breeds. *BMC Developmental Biology*, 2007, 7(1): 95.
- [17] CHO S, PARK T, YOON D, CHEONG H S, NAMGOONG S, PARK B L, LEE H W, HAN C S, KIM E M, CHEONG I, KIM H, SHIN H D. Identification of genetic polymorphisms in *FABP3* and *FABN* and putative association with back fat thickness in Korean native cattle. *BMB Reports*, 2008, 41(1): 29-34.
- [18] 梁忠泉, 刘畅, 杨志娜, 谢永新, 袁昌隆. 脂肪组织石蜡切片制作方法探讨. 中国组织化学与细胞化学杂志, 2019, 28(2): 170-173.
- LIANG Z Q, LIU C, YANG Z N, XIE Y X, YUAN C L. Discussion on preparation method for paraffin section of adipose tissues. *Chinese Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 2019, 28(2): 170-173. (in Chinese)
- [19] 王艳秀. FastStone Capture 应用于图书馆信息服务探析. 图书馆学研究, 2011, 10(20): 70-72.
- WANG Y X. Analysis of FastStone Capture in library information service. *Research on Library Science*, 2011, 10(20): 70-72. (in Chinese)
- [20] 王洪星, 张雨良, 罗志文, 杨文君, 刘志昕. ScYLV 和 SrMV 的 PCR 引物优化设计. 中国糖料, 2012(1): 16-20, 24.
- WANG H X, ZHANG Y L, LUO Z W, YANG W J, LIU Z X. Optimized design of PCR primers for ScYLV and SrMV. *Sugar Crops of China*, 2012(1): 16-20, 24. (in Chinese)
- [21] 张明. 安格斯与西门塔尔牛杂交一代育肥性能及肉质研究[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2016.
- ZHANG M. Study on fattening performance and meat quality of Angus and Simmental[D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University. 2016. (in Chinese)
- [22] 王国富, 吴慧光, 赵新海, 季守财, 吴红君, 王东升, 刘胜敏, 高树新. 安格斯牛、海福特牛和中国西门塔尔牛的部分胴体性状比较分析. 内蒙古民族大学学报, 2010, 25(5): 535-537.
- WANG G F, WU H G, ZHAO X H, JI S C, WU H J, WANG D S, LIU S M, GAO S X. Comparative study on some carcass traits in Angus, Hereford and Chinese Simmental Cattles. *Journal of Inner Mongolia University for Nationalities*, 2010, 25(5): 535-537. (in Chinese)
- [23] HE L, WU H, WANG G, MENG Q, ZHOU Z. The effects of including corn silage, corn stalk silage, and corn grain in finishing ration of beef steers on meat quality and oxidative stability. *Meat Science*, 2018, 139: 142-148.
- [24] 王莉, 孙宝忠, 保善科, 孔祥颖, 谢鹏, 张丽, 余力群, 李海鹏. 补饲和放养牦牛肉品质及肌肉微观结构差异. 肉类研究, 2015, 29(6): 5-10.
- WANG L, SUN B Z, BAO S K, KONG X Y, XIE P, ZHANG L, YU L Q, LI H P. Differences in quality and muscle microstructure of supplemented and stocked yak meat. *Meat Research*, 2015, 29(6): 5-10. (in Chinese)
- [25] 崔国梅, 彭增起, 靳红果, 孟晓霞, 冯云. 黑色牛肉与正常色泽牛肉理化性状及凝胶特性的对比分析. 食品科学, 2011, 32(13): 106-109.
- CUI G M, PENG Z Q, JIN H G, MENG X X, FENG Y. A comparative study of physico-chemical properties and gel properties of dark firm

- dry (dfd) beef and normal colored beef. *Food Science*, 2011, 32(13): 106-109. (in Chinese)
- [26] 胡猛, 张文举, 尹君亮, 陈宁, 张云峰. 育成荷斯坦奶牛与其他 3 个品种牛的肉品质比较研究. *中国畜牧兽医*, 2013, 40(3): 95-99.
- HU M, ZHANG W J, YIN J L, CHEN N, ZHANG Y F. Comparative Study on Meat Quality of Holstein Milk Bulls and Three Other Breeds. *China Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2013, 40(3): 95-99. (in Chinese)
- [27] 闫向民, 张金山, 李红波, 李娜, 杜玮, 周振勇, 张杨. 不同月龄新疆褐牛阉牛胴体性状及肉品质比较研究. *中国畜牧兽医*, 2015, 42(11): 2954-2960.
- YAN X M, ZHANG J S, LI H B, LI N, DU W, ZHOU Z Y, ZHANG Y. Comparative study on carcass characteristics and meat quality of Xinjiang Brown Cattle and yak in different months of age. *China Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2015, 42(11): 2954-2960. (in Chinese)
- [28] 曹芝, 敖日格乐, 王纯洁, 王小梅. 不同杂交品种肉牛背最长肌纤维组织学结构与嫩度对比研究. *肉类研究*, 2012, 26(2): 1-3.
- CAO Z, AO R G L, WANG C J, WANG X M. Comparative study on the histological structure and tenderness of the longest dorsal muscle fiber of different hybrid beef cattle. *Meat Research*, 2012, 26(2): 1-3. (in Chinese)
- [29] 杨公社, 邱怀, 路兴中. 猪体脂肪形成的细胞学和形态学研究. *西北农业大学学报*, 1997, 25(1): 15-21.
- YANG G S, QIU H, LU X Z. Cytological and morphological study on the formation of pig aunt. *Journal of Northwest Agricultural University*, 1997, 25(1): 15-21. (in Chinese)
- [30] ALBRECHT E, GOTOH T, EBARA F, XU J X, VIERGUTE T, NRNBERG G, MAAK S, WEGNER J. Cellular conditions for intramuscular fat deposition in Japanese Black and Holstein steers. *Meat Science*, 2011(89): 13-20.
- [31] 王鑫, 李光鹏. 牛肉质性状及其影响因素. *动物营养学报*, 2019, 31(11): 4949-4958.
- WANG X, LI G P. Beef quality traits and its influencing factors. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2019, 31(11): 4949-4958. (in Chinese)
- [32] 魏胜娟. 牛 *FABP4* 基因代谢功能研究及品种间脂肪细胞发育特性分析[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2014.
- WEI S J. Metabolic Function research on Bovine *FABP4* gene and analysis of varietal features on adipocyte development[D]. Yangling: Northwest Agriculture and Forestry University, 2014. (in Chinese)
- [33] 曲桂娟, 董晓庆, 孟轲音, 杨连玉, 丁尚红, 秦贵信. 不同杂交组合肉牛背最长肌 *FAS* mRNA 表达及其对肌肉脂肪沉积的影响. *中国兽医学报*, 2016, 36(7): 1183-1185, 1211.
- QU G J, DONG X Q, MENG K Y, YANG L Y, DING S H, QIN G X. *FAS* mRNA expression of different hybridized combination beef cattle and its effect on intramuscular fat deposition. *Chinese Journal of Veterinary Science*, 2016, 36(7): 1183-1185, 1211. (in Chinese)
- [34] 戢爽. 肉牛脂肪组织和背最长肌脂代谢相关基因差异表达分析[D]. 吉林: 吉林大学, 2013.
- Ji S. Analysis of differentially expressed gene related to lipid metabolism between adipose tissues and longissimus dorsi muscle[D]. Jilin: Jilin Agricultural University, 2013. (in Chinese)
- [35] REN M, WEGNER J, BELLMANM O, BROCKMANN G, SCHNEIDER F, TEUSCHER F, ENDER F, ENDER K. Comparing mRNA levels of genes encoding leptin, leptin receptor, and lipoprotein lipase between dairy and beef cattle. *Domestic Animal Endocrinology*, 2002, 23: 371-381.
- [36] 赵称赫. 蒙古牛肉品质及背最长肌脂肪代谢相关基因 mRNA 表达量的研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2016.
- ZHAO C H. Study on meat quality and mRNA expression of longissimus dorsi muscle fatty metabolism related factors of Mongolia Cattle[D]. Huhehaote: Neimenggu Agriculture University, 2016. (in Chinese)
- [37] 栾兆进, 刘开东, 贺建宁, 程明, 曲绪仙, 柳楠. 绵羊 *FAM134B*、*PPAR γ* 、*HSL* 和 *FAS* 基因表达量及与肌肉脂肪含量的关系. *畜牧兽医学报*, 2016, 47(12): 2379-2389.
- LUAN Z J, LIU K D, HE J N, CHENG M, QU X X, LIU N. Sheep *FAM134B*, *PPAR γ* , *HSL* and *FAS* gene expression levels and their relationship with intramuscular trace content. *Chinese Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 2016, 47(12): 2379-2389. (in Chinese)
- [38] 王刚, 曾勇庆, 武英, 魏述东, 包新见, 刘婵娟, 孙延晓. 猪肌肉组织 *LPL* 基因表达的发育性变化及其与肌肉脂肪沉积关系的研究. *畜牧兽医学报*, 2007, 7(3): 253-257.
- WANG G, ZENG Y Q, WU Y, WEI S D, BAO X J, LIU C J, SUN Y X. The developmental changes of *lpl* mRNA expression in muscle and their association with intramuscular fat for pigs. *Chinese Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 2007, 7(3): 253-257. (in Chinese)

(责任编辑 林鉴非)