

# 野牦牛和青海牦牛血清蛋白和氨基酸含量的比较研究

许玉德 许莉 (厦门大学生物学系)

**摘要** 结果表明,野、家牦牛血清蛋白组成基本相似,但 $\gamma$ -球蛋白占总球蛋白的比率和必需氨基酸与非必需氨基酸之比值存在显著差异。这在牦牛资源的开发与利用中,是有价值的基础研究资料。

**关键词** 野牦牛 青海牦牛 血清蛋白质 育种参数

在家牦牛血液导入野牦牛的遗传信息,使其后代群体从退化型中更新复壮,从而提高家牦牛的生产性能和抗逆性能,这是我国肉乳兼用型牦牛新品群培育取得显著进展的重要育种措施之一。因此,对野牦牛和家牦牛的种质测定和遗传差异分析是推进牦牛育种进程、提高牦牛改良利用效果的相关基础研究工作。20世纪50年代以来,许多学者使用不同物质为电泳支持体,对动物体受基因控制的蛋白质进行电泳分离,进而分析野生的和家养的动物蛋白质的多态性及遗传变异规律,研究野生动物强大生命力的发生机理,考证家养动物的进化历程。本文对野牦牛和青海牦牛血清蛋白质进行电泳分析及氨基酸定量测定,比较它们的异同性,旨在从蛋白质分子水平上为野家牦牛的种质分析提供实验证据。

## 1 材料与与方法

野牦牛和青海牦牛由青海省大通牛场提供,血

并由9种不同氨基酸组成的10肽;该活性10肽的第二位组氨酸(His)和第三位色氨酸(Trp)是生物活性中心;第4~10位残基参与和垂体受体细胞膜外表面嵌合,从而可见色氨酸在LHRH中的重要位序与其生物活性有关,其含量也占LHRH的17%。本次测定OIF内色氨酸含量所用样品量近30 $\mu$ g,但未检出,因此笔者推测,OIF一级结构有可能象牛、羊的LH或HCG一级结构那样,不含色氨酸;也有可能OIF是LHRH类似物,在其氨基酸位序上有与LHRH类同的His-Trp-Ser-Tyr结构,但这种位序重复序列很少,加之OIF分子量比LHRH较大,考虑该因子是否还有可能

样从动物颈静脉抽取,按常规方法制得血清。

血清蛋白质用凯氏微量定氮法定量,蛋白质组分用醋酸纤维薄膜电泳法分离;薄膜规格8cm $\times$ 12cm,点样量5 $\mu$ l。电极液为巴比妥钠缓冲液(pH 8.6, 0.015 mol/L),电压10 V/cm,电泳时间30 min。氨基黑染料显示蛋白质区带,721型分光光度计比色,求出各蛋白区带的百分比含量。血清中游离氨基酸和蛋白质水解氨基酸按常规方法制备,用HITACH 835-50型氨基酸分析仪测试,进样量50 $\mu$ l,分离柱温53 $^{\circ}$ C,反应圈温度98 $^{\circ}$ C,缓冲液的泵流量和泵压0.225 ml/min,80~100 kg/cm<sup>2</sup>,茚三酮的泵流量和泵压0.3 ml/min,20~40 kg/cm<sup>2</sup>,N<sub>2</sub>压0.28~0.30 kg/cm<sup>2</sup>,反应柱规格2.6 mm $\times$ 150 mm,检测波长440 nm,570 nm,每个样品上机测试72 min。

## 2 结果与讨论

### 2.1 血清蛋白质组分离

包含其他功能的活性位序,尚待今后进一步深入研究。

### 参考文献

- 1 张龙翔、张庭芳、李冬媛主编.生物化学实验方法与技能.北京:人民教育出版社,1981;60~61
- 2 潘光武,陈志田,李冬等.双峰驼诱导排卵活性蛋白氨基酸组成的分析.中国农业科学,1997;(30)4:83~87
- 3 刘湘涛,潘光武,李冬等.双峰驼诱导排卵因子活性肽的分离.中国兽医科技,1995;25(5):7~9
- 4 潘光武,樊立民,陈志田等.应用高效液相色谱法分离纯化双峰驼诱导排卵因子的研究.草与畜杂志,1997;4:9~13

两种牛血清蛋白质经醋酸薄膜电泳分离后均得5种电泳迁移率基本相似的蛋白组分。各组分的含量见表1

量及其在两种牛之间的差异程度见表1。

上表可见，野牦牛和青海牦牛血清除α-球蛋白

牦牛血清蛋白质的组分含量 (x ± S. D) (g%)

种类	总蛋白	白蛋白	球蛋白			r/G
			α-	β-	γ-	
野牦牛 (n=2)	6.85±0.14 100	3.12±0.12 45.5	0.80±0.02 11.7	0.73±0.03 10.7	2.20±0.13 32.1	0.59
青海牦牛 (n=10)	7.12±0.34 100	2.96±0.15 41.6	0.83±0.08 11.7	1.37±0.09 19.2	2.06±0.40 29.0	0.48
P		<0.05		<0.05	<0.05	<0.001

白外，其余各组分含量都有显著差异。其中，γ-球蛋白占总球蛋白的比率在两牛种间的差异极为显著。血清γ-球蛋白在机体中作为抗体而存在，与动物的抗逆性相关，青海牦牛γ-球蛋白占总球蛋白的比率低于野牦牛，应是青海牦牛抗逆性比野牦牛衰弱的一个内在相关因子，值得进一步分析。

2.2 血清蛋白水解氨基酸和游离氨基酸的含量

经测定，野牦牛和青海牦牛血清蛋白水解氨基酸和游离氨基酸均有17~18种(见表2)。

表2 牦牛血清氨基酸含量

种类	水解氨基酸		游离氨基酸	
	野牦牛	青海牦牛	野牦牛	青海牦牛
天冬氨酸	10.086	9.067	0.092	0.025
苏氨酸	5.453	5.035	0.081	0.014
丝氨酸	5.570	4.111	0.048	0.014
谷氨酸	10.989	8.882	0.127	0.080
甘氨酸	2.667	2.505	0.157	0.044
丙氨酸	3.925	3.304	0.203	0.036
半胱氨酸	2.360	2.021	0.005	0.011
缬氨酸	4.757	4.050	0.137	0.047
蛋氨酸	0.421	0.483	0.082	0.006
异亮氨酸	2.259	2.055	0.078	0.023
亮氨酸	6.640	5.831	0.167	0.030
酪氨酸	3.237	3.006	0.017	0.016
苯丙氨酸	3.333	3.192	0.080	0.018
赖氨酸	6.553	5.876	0.125	0.029
组氨酸	2.190	2.001	0.050	0.023
精氨酸	3.691	2.992	0.183	0.009
脯氨酸	1.908	1.708	0.018	0.022
色氨酸			0.018	0.010
总量	76.049	66.119	1.682	0.455
必需氨基酸	35.297	31.514	1.021	0.207
非必需氨基酸	40.752	34.605	0.666	2.247
比率①	0.87	0.91	1.53	0.83

①比率=必需氨基酸/非必需氨基酸

显然，机体内的必需氨基酸须从外界摄取。本文所测牛只血清蛋白水解氨基酸和游离氨基酸的含量比没有显著差异，但野牦牛血清蛋白水解氨基酸中必需氨基酸与非必需氨基酸之比值[0.87]低于青海牦牛[0.91]，表明野牦牛在机体蛋白质合成时对其合成原料的需求并不苛求，更为突出的是野牦牛血清中游离氨基酸的总量几乎是青海牦牛的4倍，而且，其中的必需氨基酸与非必需氨基酸之比值一反在蛋白质水解氨基酸之表现而显著高于青海牦牛(p<0.001)。这说明了野牦牛对外界营养物质的高效转化率和吸收率，显示了机体自身对生存环境的能动适应能力，无疑又是其优于青海牦牛而在高寒严酷的生态环境中得以繁衍的一个重要生化参数。

目前，从若干主要经济性状分析，我国家牦牛已有向“小、窄、低”方向变异退化的趋势，现存的家牦牛成了野牦牛的退化种，显然，这有悖于正常的育种规律。野牦牛具有较高的育种价值，又能与家牦牛自然交配生产出具有正常生育能力的后代，利用野、家牦牛杂交一代作为品种选育的基础群，将牦牛的育种重点从现在的生态型地方品种选育转向经济型优良种培育，这是加速我国牦牛育种进程的一条可行途径。其间，生物化学分析必不可少。

致谢：本工作承青海省大通牛场大力帮助，谨此致谢！

参考文献

- 1 Pantelouis, EM et al Serum protein of apodemus sylvaticus and mus musculus Comp. Biochem. physiol. 1967; 21: 533~539
- 2 许玉德. 牦牛血清蛋白质的标定及应用. 厦门大学学报(自然科学版), 1992; 31(4): 413~418