

doi:10.6041/j.issn.1000-1298.2018.10.042

不同海拔高度牛宰后牛肉 AMPK 活性及能量代谢研究

杨雅媛¹ 宋仁德² 韩玲¹ 高永芳¹ 余群力¹ 马君义³

(1. 甘肃农业大学食品科学与工程学院, 兰州 730070; 2. 青海省玉树州畜牧兽医工作站, 玉树 815000;
3. 青海百德投资发展有限公司, 西宁 810008)

摘要: 为了研究不同海拔高度生长的牛宰后牛肉一磷酸腺苷活化蛋白激酶(AMPK)活性与糖酵解指标,以探讨宰后肌肉生理机理,测定了玉树牦牛(海拔4500 m)、甘南牦牛(海拔3000 m)和西门塔尔杂交肉牛(海拔1500 m)宰后成熟过程中牛肉 AMPK 活性、AMPK 基因(PRKAA1、PRKAA2)mRNA 表达量、糖酵解和能量代谢的变化。结果表明,12~168 h 时间内,AMPK 活性从小到大依次为西门塔尔杂交牛、甘南牦牛、玉树牦牛;西门塔尔杂交牛 PRKAA1 基因的表达量比甘南牦牛和玉树牦牛略低;西门塔尔杂交牛 PRKAA2 基因表达量显著小于甘南牦牛和玉树牦牛($P < 0.05$);72~168 h 时间内,乳酸含量和游离葡萄糖含量从小到大依次为西门塔尔杂交牛、甘南牦牛、玉树牦牛,pH 值、肌糖原含量从大到小依次为西门塔尔杂交牛、甘南牦牛、玉树牦牛;成熟前期 ATP、ADP、AMP 含量从大到小依次为西门塔尔杂交牛、甘南牦牛、玉树牦牛。高海拔品种牛肉肌体 PRKAA1 和 PRKAA2 基因表达量高时,AMPK 被激活从而活性增加,ATP 的浓度水平降低,AMP 生成量增加,加速组织内的糖酵解,增加肌肉乳酸含量,降低 pH 值,进而影响牛肉品质。

关键词: 牛肉;海拔高度;AMPK;糖酵解;能量代谢

中图分类号: TS251.1 文献标识码: A 文章编号: 1000-1298(2018)10-0370-05

AMPK Activity and Glycolysis of Postmortem Beef at Different Altitudes

YANG Yayuan¹ SONG Rende² HAN Ling¹ GAO Yongfang¹ YU Qunli¹ MA Junyi³

(1. College of Food Science and Engineering, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China

2. Yushu Animal Husbandry and Veterinary Workstation, Yushu 815000, China

3. Qinghai Baide Investment Development Limited Company, Xining 810008, China)

Abstract: With the aim to explore the effects of AMPK activity, AMPK mRNA expression (PRKAA1, PRKAA2) in beef during the post-mortem period were measured in Yushu yak (4 500 m above sea level), Gannan yak (3 000 m above sea level) and Simmental hybrid beef (1 500 m above sea level) changes in glycolysis and energy metabolism. The results showed that the AMPK activities was in a ascending trend as Simmental hybrids, Gannan yak and Yushu yak; the expression of PRKAA1 in Simmental hybrid was slightly lower than that in Gannan and Yushu; the expression of PRKAA2 in Simmental hybrid was significantly lower than that in Gannan and Yushu ($P < 0.05$). In 12 ~ 168 h, lactate content and free glucose content were in a ascending trend as Simmental hybrid cattle, Gannan yak and Yushu yak; in 72 ~ 168 h, pH value and muscle glycogen content were in a descending trend as Simmental hybrid cattle, Gannan yak and Yushu yak; early maturity ATP, ADP and AMP were in a descending trend as Simmental hybrid cattle, Gannan yak and Yushu yak. In summary, as PRKAA1 and PRKAA2 gene expression in high-altitude beef body was high, AMPK was activated to increase activity, ATP concentration was lower, AMP production was increased, tissue glycolysis was accelerated, muscle lactate content was increase and pH value was lowered, thus affecting the quality of meat. The activity of AMPK in beef was increased under high altitude with hypoxia adaptability, which accelerated glycolysis metabolism and more effectively regulated energy generation.

Key words: beef; altitudes; AMPK; glycolysis; energy metabolism

收稿日期: 2018-04-07 修回日期: 2018-06-01

基金项目: 国家自然科学基金地区科学基金项目(31760482)、国家现代农业产业(肉牛牦牛)技术体系建设专项(CARS-37)和青海省重点研发与转化计划项目(2017-NK-C6)

作者简介: 杨雅媛(1990—),女,博士生,主要从事畜产品加工研究,E-mail: yancyangzxl@163.com

通信作者: 韩玲(1963—),女,教授,博士生导师,主要从事畜产品贮藏加工研究,E-mail: hanl@gsau.edu.cn

0 引言

青海玉树牦牛主要生长在平均海拔 4 500 m 左右的高山草原,其空气含氧量仅为海平面的 50%^[1-2],甘肃甘南牦牛主要分布于海拔 3 000 m 左右的甘南草原,甘肃张掖地区的西门塔尔牛 × 秦川牛(西杂牛)主要生活在约 1 500 m 的农区。本课题组前期研究发现,与低海拔地区的牛肉相比,高海拔地区牛肉中糖酵解强度增加,是由于牦牛为适应高原环境而产生高原适应现象,通过增加糖酵解来维持三磷酸腺苷(ATP)的产生^[3-5]。研究表明,牦牛机体中存在适应低氧环境的特有代谢机制,以达到低氧条件下的能量供求平衡,其中 5'-磷酸腺苷活化蛋白激酶(AMP-activated protein kinase, AMPK)作为重要的细胞能量传感器,在调节能量代谢和肉质中起重要作用^[6-9]。

低氧条件下,机体处于应激状态,代谢加强,三磷酸腺苷(ATP)消耗增加,ATP 的浓度水平降低,AMP 生成量增加,高浓度的 5'-磷酸腺苷(5'-AMP)和 AMPK 的 γ -亚基相互作用,激活 AMPK^[9]。DING 等^[10]对 3 种不同海拔高度牦牛中乳酸脱氢酶(LDH)活性研究显示,该酶与海拔高度呈正相关关系,LDH 是无氧糖酵解的关键酶,更高海拔的牦牛更加依赖能量代谢供应。LIN 等^[11]通过对牦牛与平原肉牛背最长肌中 LDH 活性比较发现,LDH 在牦牛中表现出更高的酶活力,与平原肉牛相比,牦牛背最长肌更倾向于糖酵解代谢。SHEN 等^[12]对 3 种不同海拔高度猪种糖酵解潜力进行了研究,结果表明,与平原品种相比,较高海拔品种具有较低的能量代谢水平。因此,有必要对不同海拔高度、低氧环境下能量代谢及 AMPK 活性的变化进行进一步研究。本文研究不同海拔高度牛宰后牛肉成熟过程中 AMPK 基因(PRKAA1、PRKAA2) mRNA 表达量、AMPK 活力对糖酵解以及能量代谢的影响,为建立宰后牦牛肉能量代谢理论体系奠定基础。

1 材料仪器与试验方法

1.1 材料与试剂

试验材料:玉树牦牛样本采自青海省玉树藏族自治州(海拔 4 500 m 左右),甘南牦牛样本采自甘肃省甘南藏族自治州(海拔 3 000 m 左右),西门塔尔杂种牛样本采自甘肃省张掖地区(海拔 1 500 m 左右),选取生长发育正常、健康无病、平均年龄 2 ~ 4 岁,体质量(200 ± 20) kg,雌雄各半的 3 类样本各 10 头,宰前禁食 16 ~ 18 h,禁水 2 h。屠宰后立即取牛胴体中部背最长肌肉样,置于 0 ~ 4℃ 环境下。

试验试剂:RNAiso Plus(Total RNA 提取试剂), Prime Script™ RT reagent Kit with gDNA Eraser (Perfect Real Time)(RNA 逆转录试剂盒),SYBR Premix Ex Taq™ II(染料法荧光定量试剂盒),pMD 19-T Vector Kit(逆转录试剂盒),大连宝生物工程有限公司;RNase-free 水,北京天根生物技术有限责任公司;AxyPrepDNA 凝胶回收试剂盒,康宁生命科学(吴江)有限公司;Transl-T1 感受态细胞,北京全式金生物技术有限责任公司;牛磷酸化腺苷活化蛋白激酶(p-AMPK)酶联免疫检测试剂盒,乳酸测定试剂盒,肌/肝糖原测定试剂盒,游离葡萄糖(Glu),ATP 含量测定试剂盒,ADP 含量测定试剂盒,AMP 含量测定试剂盒,南京建成生物工程研究所;Tris-HCl, D-mannitol(D-甘露糖醇),美国 Amresco 公司;EDTA, EGTA, 美国 Sigma 公司;DTT, 德国 Merck 公司;NaF(焦磷酸钠),天津永大化学试剂厂;浓硫酸, NaCl, 国药集团化学试剂有限公司。以上试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

Eppendorf 5417R 型低温台式冷冻离心机,德国 Eppendorf 生物公司;CFX96 型实时定量 PCR 仪,美国 Bio-Rad 公司;BG-power 3500 型稳压稳流电泳仪、水平电泳槽,北京百晶生物技术有限公司;Biometra PCR 扩增仪,北京北方华奥贸易有限责任公司;凝胶成像分析系统,美国 BIO-RAD 公司;TU-1810 型紫外可见分光光度计,北京普析通用仪器有限责任公司;LRH-250 型生化培养箱,上海一恒科学仪器有限公司;XHF-DY 型高速分散器,宁波新芝生物科技股份有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 样品采集和制备

以上述背最长肌(*Longissimus dorsi*)为试验材料,每头分别取 40 g 肉样,立即放入液氮中,用于 0 h 样品,以及 AMPK 活力、糖酵解指标、能量代谢等指标进行的测定。

将其余背最长肌肉样每块迅速切成 40 g,于 4℃ 条件下,分别成熟 12、24、72、120、168 h,在相应时间点测定 pH 值,以及进行 AMPK 活力、糖酵解指标、能量代谢等指标的测定。同时,将肉样在设计时间点用液氮迅速冷冻,置于 -80℃ 待测。

宰后 1 h 内取其背最长肌切成约 100 mg 的小肉块,立即放入无酶无菌冻存管中,液氮中冷冻,置于 -80℃,用于对 AMPK 基因表达量的测定。

1.3.2 AMPK 活性测定

取样品约 0.3 g,按照料液比 5 mL/g 加入保存于 4℃ 冰箱的冷冻匀浆液,在 3 000 r/min 的条件下

冰浴匀浆,每次匀浆 12 s,间隙 30 s,连续 5 次。然后在 4℃、10 000 r/min 的条件下冷冻离心 5 min,取上清液用于 AMPK 活力的测定。AMPK 活力的测定步骤以及计算结果参照试剂盒说明书进行。

1.3.3 AMPK 基因表达量的测定

总 RNA 的提取及反转录:参照文献[13]对肌肉中总 RNA 进行提取。RNA 样品于 -80℃ 冰箱中保存。利用反转录试剂盒合成 cDNA。按 Trizol

Reagent 试剂盒要求提总 RNA;用反转录试剂盒对 RNA 进行反转录^[14]。

引物序列来源及合成:PRKAA1、PRKAA2 基因引物序列参照马晓冰^[15]的设计。

实时定量 PCR 扩增:本试验按照 CFX96 型实时荧光定量 PCR 的二步法进行操作。以所合成的 cDNA 为模板,使用 TaKaRa SYBR Premix Ex TaqTMII 试剂盒进行实时定量 PCR 扩增^[16],见表 1。

表 1 用于实时荧光定量 PCR 的引物序列及 PCR 参数

Tab.1 Primer sequences and parameter used for real-time quantitative PCR

基因名称	序列号	Gene Bank 登录号	引物序列(5'端到3'端)	相对含量/%	DNA 熔解温度/℃	产物长度/bp
PRKAA1	BA040395	NM0011098022	正向:CACACATGAATGCCAAAGATAGCTGA	40.0	63.5	109
			反向:ATTACTTCTGGTGCAGCATAGTTGG	44.0	62.8	
PRKAA2	BA073991	NM0012056051	正向:GAAGATCGGCCACTACGTGCT	57.1	63.8	93
			反向:ACTTTATGGCCTGTCAATTGATGCT	40.0	64.1	

基因相对表达量的计算:试验采用文献[17]的方法对实时定量 PCR 数据进行处理和分析,数据用平均值±标准误差表示,均值差异显著性采用 One-Way ANOVA 统计。采用 SPSS 19.0 进行相关性分析。

1.3.4 糖酵解指标的测定

将 pH 计的探针插入肉样中,使 pH 计的电极与肌肉组织充分接触,读数稳定后记录,每个肉样重复测定 3 次,取平均值。

肌糖原、乳酸、游离葡萄糖含量采用南京建成试剂公司的试剂盒进行测定,试验具体操作和结果计算参照各试剂盒的说明进行。

1.3.5 能量代谢指标的测定

参照 ATP、ADP、AMP 含量测定试剂盒说明书测定其摩尔质量浓度,用双缩脲法测定样品的蛋白含量。

1.4 数据统计分析

试验结果均采用平均值±标准差表示,数据均平行测定 3 次,用 SPSS 19.0 软件进行方差分析,用 Origin 8.5 软件制图。

2 结果与分析

2.1 AMPK 活性

AMPK 活性会受到运动、缺氧、缺血、应激等多种因素的影响^[13,15-16,18],成熟过程中 AMPK 活力变化如图 1 所示,图中小写字母表示同一海拔高度牛肉在成熟过程中指标的差异显著($P < 0.05$),大写字母表示不同海拔高度牛肉在每个成熟时间点指标的差异显著($P < 0.05$),下同。缺氧条件下,西杂牛 AMPK 活力均低于甘南牦牛和玉树牦牛,可能是由

于牦牛在低氧条件下,机体处于应激状态,代谢加强,ATP 消耗增加,ATP 的浓度水平降低,AMP 生成量增加,高浓度的 AMP 激活 AMPK。AMPK 能够调节动物机体糖代谢,当 AMPK 活化以后可以通过促进糖酵解和糖原分解来提高细胞的 ATP 水平,抑制糖原合成和糖异生来阻止 ATP 的消耗^[19],从而增加 ATP 含量以维持机体能量代谢平衡。

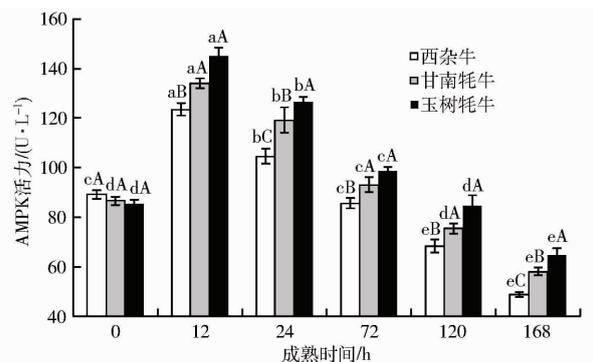


图 1 成熟过程中 AMPK 活力的变化

Fig.1 Changes of AMPK activity during conditioning time

2.2 基因表达量

如图 2 所示,玉树牦牛 PRKAA1 基因($\alpha 1$)的表达量与西门塔尔杂交牛和甘南牦牛相比差异不显著,甘南牦牛和玉树牦牛 PRKAA2 基因($\alpha 2$)表达量显著大于西门塔尔杂交牛($P < 0.05$)。AMPK 在应激情况下对调节细胞代谢,维持细胞内环境的稳定有重要作用。AMPK α 是最为重要的催化亚基,主要分布在骨骼肌、肝脏和心脏,它出现缺陷或活性降低会直接影响机体能量调节功能, $\alpha 2$ 亚基在骨骼肌中的表达要高于 $\alpha 1$ 亚基,含量占总 AMPK 的 80% 以上,并且 $\alpha 2$ 亚基有更强的催化效力^[17]。当机体处于代谢应激时,AMPK 往往被激活,活化的 AMPK

能促进外周组织摄取和利用血糖,从而纠正能量代谢的失衡,维护细胞和整体代谢稳态的稳定,因此 AMPK $\alpha 2$ 亚基对宰后糖酵解过程起到主要调节作用。

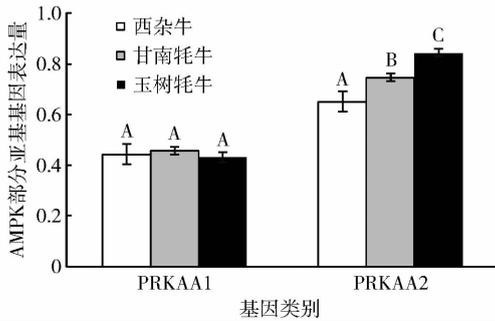


图 2 AMPK α 亚基基因表达水平

Fig. 2 Gene expression of α subunits of AMPK

2.3 宰后糖酵解指标

pH 值的下降主要是由屠宰后乳酸的增加引起的^[14]。由表 2 可看出,刚屠宰时,牛肉的 pH 值均在 6.5~7.0 之间,屠宰后由于胴体氧气供应中断,糖原进行无氧糖酵解产生乳酸,ATP 分解后生成磷酸,乳酸、磷酸使肉的 pH 值下降。但不同种类的动物肌肉在成熟过程中,pH 值下降速度存在差异。玉树牦牛、甘南牦牛和西门塔尔杂交牛成熟至 72 h, pH 值达到其极限值,此时 pH 值在 5.53~5.58 之间。

表 2 宰后牛肉成熟过程中糖酵解指标变化

Tab. 2 Change of yak skeletal muscle quality during conditioning time

指标	样本	成熟时间/h					
		0	12	24	72	120	168
pH 值	西杂牛	(6.57 ± 0.12) ^{aA}	(5.70 ± 0.11) ^{bA}	(5.63 ± 0.19) ^{bA}	(5.58 ± 0.28) ^{cA}	(5.63 ± 0.11) ^{bA}	(5.69 ± 0.08) ^{bA}
	甘南牦牛	(6.60 ± 0.18) ^{aA}	(5.84 ± 0.14) ^{bB}	(5.62 ± 0.09) ^{cA}	(5.54 ± 0.12) ^{bB}	(5.62 ± 0.18) ^{cAB}	(5.65 ± 0.19) ^{cB}
	玉树牦牛	(6.64 ± 0.13) ^{aA}	(5.85 ± 0.14) ^{bB}	(5.63 ± 0.18) ^{cA}	(5.53 ± 0.12) ^{bB}	(5.61 ± 0.11) ^{cB}	(5.63 ± 0.11) ^{cB}
肌糖原质量比 (mg·g ⁻¹)	西杂牛	(5.68 ± 0.08) ^{aA}	(4.87 ± 0.10) ^{bA}	(4.31 ± 0.12) ^{bA}	(3.32 ± 0.11) ^{cA}	(2.47 ± 0.03) ^{dA}	(1.94 ± 0.01) ^{eA}
	甘南牦牛	(5.50 ± 0.07) ^{aA}	(4.75 ± 0.03) ^{bA}	(4.21 ± 0.03) ^{bA}	(3.13 ± 0.07) ^{cB}	(2.43 ± 0.03) ^{dA}	(1.88 ± 0.01) ^{eA}
	玉树牦牛	(5.38 ± 0.03) ^{aB}	(4.64 ± 0.22) ^{bA}	(4.15 ± 0.08) ^{bB}	(3.07 ± 0.08) ^{cC}	(2.35 ± 0.11) ^{dA}	(1.83 ± 0.07) ^{cB}
游离葡萄糖浓度 (mmol·L ⁻¹)	西杂牛	(9.63 ± 0.048) ^{aA}	(9.58 ± 0.030) ^a	(9.85 ± 0.040) ^{bA}	(8.43 ± 0.064) ^{aC}	(8.48 ± 0.068) ^{aC}	(8.47 ± 0.051) ^{aC}
	甘南牦牛	(8.75 ± 0.102) ^{aB}	(8.76 ± 0.080) ^{aB}	(8.83 ± 0.058) ^{bB}	(8.77 ± 0.107) ^{cB}	(8.77 ± 0.078) ^{cB}	(8.75 ± 0.065) ^{cB}
	玉树牦牛	8.46 ± 0.031) ^{aC}	(8.53 ± 0.055) ^{bC}	(8.39 ± 0.069) ^{cC}	(9.86 ± 0.042) ^{bA}	(9.83 ± 0.067) ^{bA}	(9.59 ± 0.071) ^{aA}
乳酸质量浓度 (ng·mL ⁻¹)	西杂牛	(97.80 ± 1.64) ^{aA}	(130.66 ± 4.27) ^{bA}	(165.91 ± 3.25) ^{cA}	(214.95 ± 3.08) ^{dC}	(158.80 ± 1.87) ^{cB}	(139.59 ± 2.96) ^{cC}
	甘南牦牛	(93.30 ± 5.23) ^{aB}	(121.59 ± 3.35) ^{bB}	(154.97 ± 5.05) ^{cB}	(222.28 ± 3.77) ^{eB}	(161.13 ± 6.07) ^{dB}	(144.59 ± 6.60) ^{cB}
	玉树牦牛	(89.39 ± 3.09) ^{aC}	(118.15 ± 1.56) ^{bB}	(149.97 ± 3.03) ^{cB}	(236.65 ± 3.56) ^{dA}	(173.39 ± 2.09) ^{eA}	(155.75 ± 3.56) ^{cA}

随着宰后成熟的进行,ATP 逐渐耗尽,肌肉缺少能量控制,肌肉组织开始失控瓦解,解僵开始^[23]。在低氧条件下,机体处于应激状态,代谢加强,三磷酸腺苷(ATP)消耗增加,ATP 的浓度水平降低,AMP 生成量增加,高浓度的 5'-AMP 和 AMPK 相互作用,激活 AMPK^[1,24]。AMPK 激活的过程中伴随 ADP、AMP 含量的降低。如表 3 所示,不同海拔高度牛肉宰后 ADP 的消耗总体都呈现显著的下降趋势($P <$

在 3 种海拔高度基因型中,背最长肌的糖原和乳酸含量分别如表 2 所示。成熟过程中糖原含量快速下降,乳酸含量在宰后 24 h 前迅速增加($P < 0.05$),但宰后 72 h 的变化速率降低,后趋于稳定。玉树牦牛和甘南牦牛是适应低氧水平和寒冷环境的高海拔品种,有特殊的糖酵解特征。为了适应寒冷、高海拔的环境,玉树牦牛和甘南牦牛必须有足够的能量供应来维持体温。无氧代谢(糖酵解)效率低下,每个葡萄糖分子仅产生 2 个 ATP 分子,而完全氧化代谢产生 38 个 ATP 分子^[20]。因此,玉树牦牛和甘南牦牛必须提高能量产生的效率,从而可以诱导高海拔品种增加氧化代谢和减少无氧代谢^[21]。影响宰后糖酵解变化的主要因素有糖原含量,糖原影响游离葡萄糖的含量,通过糖酵解将游离葡萄糖分解成乳酸^[22]。为了更好地了解糖酵解差异,进一步研究了宰后游离葡萄糖含量(表 2)。宰后西杂牛总体游离葡萄糖含量高于玉树牦牛和甘南牦牛。与此同时,宰后成熟过程中游离葡萄糖的含量并没有出现剧烈的上升和下降。根据结果表明,当糖酵解底物含量足够时,糖原合成和分解不是影响乳酸含量进而改变肉质的关键因素,因此该机制解释了不同品种的肉质差异,仅与葡萄糖通过糖酵解分解成乳酸的过程有关。

0.05),低海拔的西杂牛 ADP 含量始终较高。

3 结束语

通过测定玉树牦牛(海拔 4 500 m)、甘南牦牛(海拔 3 000 m)和西门塔尔杂交肉牛(海拔 1 500 m)宰后成熟过程中牛肉 AMPK 活性、AMPK 基因(PRKAA1、PRKAA2)mRNA 表达量、糖酵解和能量代谢的变化可以得出,高海拔地区 AMPK 的活性高

表3 宰后牛肉成熟过程中能量代谢指标变化

Tab.3 Change of yak skeletal muscle energy metabolism during conditioning time

mmol/g

指标	样本	成熟时间/h					
		0	12	24	72	120	168
ATP 摩尔质量浓度	西杂牛	(3.51 ± 0.110) ^{aA}	(2.61 ± 0.105) ^{bA}	(2.27 ± 0.180) ^{cA}	(0.62 ± 0.115) ^{cA}	(0.82 ± 0.101) ^{dA}	(1.09 ± 0.036) ^{dA}
	甘南牦牛	(3.11 ± 0.093) ^{aB}	(2.13 ± 0.062) ^{bB}	(1.97 ± 0.053) ^{cB}	(0.36 ± 0.056) ^{cB}	(0.73 ± 0.067) ^{dB}	(0.86 ± 0.055) ^{dB}
	玉树牦牛	(3.02 ± 0.041) ^{aC}	(1.95 ± 0.055) ^{bC}	(1.84 ± 0.051) ^{bB}	(0.22 ± 0.036) ^{cB}	(0.51 ± 0.025) ^{cC}	(0.61 ± 0.020) ^{cC}
ADP 摩尔质量浓度	西杂牛	(4.43 ± 0.122) ^{aA}	(2.57 ± 0.059) ^{bA}	(0.88 ± 0.030) ^{dA}	(1.38 ± 0.080) ^{cA}	(1.16 ± 0.065) ^{cA}	(1.21 ± 0.057) ^{cA}
	甘南牦牛	(4.19 ± 0.026) ^{aB}	(2.12 ± 0.073) ^{bB}	(0.69 ± 0.070) ^{dB}	(1.05 ± 0.112) ^{cB}	(0.88 ± 0.087) ^{cB}	(0.98 ± 0.025) ^{cB}
	玉树牦牛	(3.99 ± 0.042) ^{aC}	(1.90 ± 0.045) ^{bC}	(0.54 ± 0.036) ^{dB}	(0.77 ± 0.078) ^{cC}	(0.72 ± 0.031) ^{cB}	(0.81 ± 0.055) ^{cB}
AMP 摩尔质量浓度	西杂牛	(0.29 ± 0.018) ^{aA}	(0.19 ± 0.013) ^{cA}	(0.23 ± 0.012) ^{bA}	(0.16 ± 0.010) ^{dA}	(0.15 ± 0.015) ^{dA}	(0.12 ± 0.002) ^{eA}
	甘南牦牛	(0.27 ± 0.015) ^{aB}	(0.15 ± 0.011) ^{cB}	(0.20 ± 0.009) ^{bB}	(0.13 ± 0.006) ^{cB}	(0.11 ± 0.005) ^{dB}	(0.09 ± 0.007) ^{eB}
	玉树牦牛	(0.25 ± 0.004) ^{aC}	(0.14 ± 0.010) ^{cB}	(0.18 ± 0.008) ^{bB}	(0.12 ± 0.003) ^{cB}	(0.08 ± 0.007) ^{dC}	(0.07 ± 0.003) ^{dB}

于低海拔地区,并且高海拔地区条件下 PRKAA1 和 PRKAA2 基因表达量均高于低海拔条件下。这说明 PRKAA1 以及 PRKAA2 基因表达量升高会使 AMPK 的活性增加,AMPK 被激活后直接磷酸化糖酵解通路,使糖酵解活性增加,从而促进糖酵解进程,产生

大量乳酸,进而导致宰后动物肌肉的能量代谢降低。因此,高海拔、低氧适应性下牛肉 AMPK 的活性增加,从而加快糖酵解代谢,有效调节能量的生成,为建立宰后牦牛肉能量代谢理论体系奠定了一定基础。

参 考 文 献

- 1 WANG H B, ZAN L S, ZHANG Y Y. Profiling of the yak skeletal muscle tissue gene expression and comparison with the domestic cattle by genome array[J]. *Animal*, 2014, 8(1): 28-35.
- 2 ZUO H X, HAN L, YU Q L, et al. Proteome changes on water-holding capacity of yak longissimus lumborum during postmortem aging[J]. *Meat Science*, 2016, 121: 409-419.
- 3 左惠心, 赵素南, 余群力, 等. 牦牛与黄牛肌肉差异的蛋白质组及生物信息学分析[J/OL]. *农业机械学报*, 2017, 48(4): 146-151. http://www.j-csam.org/jcsam/ch/reader/view_abstract.aspx?flag=1&file_no=20170441&journal_id=jesam. DOI:10.604/j.issn.1000-1298.2017.04.041.
- 4 ZUO Huixin, ZHAO Suonan, YU Qunli, et al. Proteomics and bioinformatics analyses of differentially expressed proteins in yak and beef cattle muscle[J/OL]. *Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery*, 2017, 48(4): 146-151. (in Chinese)
- 5 HARDIE D G, ROSS F A, HAWLEY S A. AMPK: a nutrient and energy sensor that maintains energy homeostasis [J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2012, 13(4): 251-262.
- 6 HARDIE D G. Minireview: the AMP-activated protein kinase cascade: the key sensor of cellular energy status [J]. *Endocrinology*, 2003, 144(12): 5179-5183.
- 7 CHEN Z P, STEPHENS T J, MURTHY S, et al. Effect of exercise intensity on skeletal muscle AMPK signaling in humans[J]. *Diabetes*, 2003, 52(9): 2205-2212.
- 8 WOJTASZEWSKI J F, NIELSEN P, HANSEN B F, et al. Isoform specific and exercise intensity-dependent activation of 5'-AMP-activated protein kinase in human skeletal muscle[J]. *J. Physiol.*, 2000, 528(1): 221-226.
- 9 MUSI N, HAYASHI T, FUJII N, et al. AMP-activated protein kinase activity and glucose uptake in rat skeletal muscle[J]. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 2001, 280(5): E677-E684.
- 10 PARK S H, GAMMON S R, KNIPPERS J D, et al. Phosphorylation activity relationships of AMPK and acetyl-CoA carboxylase in muscle[J]. *J. Appl. Physiol.*, 2002, 92(6): 2475-2482.
- 11 DING X Z, LIANG C N, GUO X, et al. Physiological insight into the high-altitude adaptations in domesticated yaks (*Bos grunniens*) along the Qinghai-Tibetan Plateau altitudinal gradient[J]. *Livestock Science*, 2014, 162(1): 233-239.
- 12 LIN Y Q, WANG G S, FENG J, et al. Comparison of enzyme activities and gene expression profiling between yak and bovine skeletal muscles[J]. *Livestock Science*, 2011, 135(1): 93-97.
- 13 SHEN L, LEI H, ZHANG S, et al. Comparison of energy metabolism and meat quality among three pig breeds[J]. *Animal Science Journal*, 2014, 85(7): 770-779.
- 14 LUO X, ZHU Y, ZHOU G H. Electron microscopy of contractile bands in low voltage electrical stimulation beef [J]. *Meat Science*, 2008, 80(3): 948-951.
- 15 LI M, TIAN S, JIN L, et al. Genomic analyses identify distinct patterns of selection in domesticated pigs and Tibetan wild boars [J]. *Nature Genetics*, 2013, 45(12): 1431-1438.
- 16 马晓冰. 饲养方式对宰后苏尼特羊肉 AMPK、糖酵解及肉品质的影响[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2016.
- 17 MA Xiaobing. The effect of feeding methods on AMPK, glycolysis and meat quality of postmortem sunit sheep [D]. Huhhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2016. (in Chinese)

- 2015, 17(12):7606 – 7618.
- 14 KUMAR E K, HAQUE N, PRABHU N P. Kinetics of protein fibril formation: methods and mechanisms [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2016, 100:3 – 10.
 - 15 LOVEDAY S M, SU J, RAO M A, et al. Whey protein nanofibrils: the environment-morphology-functionality relationship in lyophilization, rehydration, and seeding [J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2012, 60(20):5229 – 5236.
 - 16 LOVEDAY S M, CREAMER L K, SINGH H, et al. Tuning the properties of β -lactoglobulin nanofibrils with pH, NaCl and CaCl₂ [J]. *International Dairy Journal*, 2010, 20(9):571 – 579.
 - 17 LOVEDAY S M, SU J, RAO M A, et al. Effect of calcium on the morphology and functionality of whey protein nanofibrils [J]. *Biomacromolecules*, 2011, 12(10):3780 – 3788.
 - 18 LOVEDAY S M, WANG X L, RAO M A, et al. β -lactoglobulin nanofibrils: effect of temperature on fibril formation kinetics, fibril morphology and the rheological properties of fibril dispersions [J]. *Food Hydrocolloids*, 2012, 27(1):242 – 249.
 - 19 BOLDER S G, HENDRICKX H, SAGIS L M. Fibril assembly in whey protein mixtures [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2006, 54(12):4229 – 4234.
 - 20 OBOROCEANU D. Characterization of β -lactoglobulin fibrillar assemblies using atomic force microscopy, polyacrylamide gel electrophoresis, and in situ fourier transform infrared spectroscopy [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2010, 58(6):3667 – 3673.
 - 21 SANLI T, SEZGIN E, DEVECI O, et al. Effect of using transglutaminase on physical, chemical and sensory properties of set-type yoghurt [J]. *Food Hydrocolloids*, 2011, 25(6):1477 – 1481.
 - 22 XIN G, LYDIAJ C, STEPHENR E. Influence of sugars on the characteristics of glucono- δ -lactone-induced soy protein isolate gels [J]. *Food Hydrocolloids*, 2009, 23(2):314 – 326.
 - 23 AKKERMANS C, VENEMA P, AJ V D G, et al. Peptides are building blocks of heat-induced fibrillar protein aggregates of beta-lactoglobulin formed at pH 2 [J]. *Biomacromolecules*, 2008, 9(5):1474 – 1479.
 - 24 KREBS M R, DEVLIN G L, DONALD A M. Amyloid fibril-like structure underlies the aggregate structure across the pH range for beta-lactoglobulin [J]. *Biophysical Journal*, 2009, 96(12):5013 – 5019.
 - 25 NILSSON M R. Techniques to study amyloid fibril formation in vitro [J]. *Methods*, 2004, 34(1):151 – 160.

(上接第 374 页)

- 16 BROCKS L, KLONT R E, BUIST W, et al. The effects of selection of pigs on growth rate vs. leanness on histochemical characteristics of different muscles [J]. *Journal of Animal Science*, 2000, 78(5):1247.
- 17 HAMILTON D N, MILLER K D, ELLIS M, et al. Relationships between longissimus glycolytic potential and swine growth performance, carcass traits, and pork quality [J]. *Journal of Animal Science*, 2003, 81(9):2206.
- 18 LIVAK K J, SCHMITTGEN T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2^{(-Delta Delta C (T))} method [J]. *Methods*, 2001, 25(4):402 – 408.
- 19 MONIN G, SELIER P. Pork of low technological quality with a normal rate of muscle pH fall in the immediate post-mortem period: the case of the Hampshire breed [J]. *Meat Science*, 1985, 13(1):49 – 63.
- 20 王兵. 力竭运动对大鼠心肌 AMPK 活性的影响 [J]. *西安工业大学学报*, 2013, 33(1):68 – 71.
WANG Bing. Effect of exhausted exercise on AMPK expression in rat's myocardium [J]. *Journal of Xi'an Technological University*, 2013, 33(1):68 – 71. (in Chinese)
- 21 李爽, 李燕舞, 王蕾, 等. 长期运动训练对机体血清中 AMPK 水平的影响 [J]. *现代生物医学进展*, 2012, 12(24):4698 – 4700.
LI Shuang, LI Yanwu, WANG Lei, et al. The effects of long-term exercise training on the AMPK level in the serum [J]. *Progress in Modern Biomedicine*, 2012, 12(24):4698 – 4700. (in Chinese)
- 22 CORTON J M, GILLESPIE J G, HARDIE D G. Role of the AMP-activated protein kinase in the cellular stress response [J]. *Current Biology*, 1994, 4(4):315 – 324.
- 23 MIHAYLOVA M M, SHAW R J. The AMPK signalling pathway coordinates cell growth, autophagy and metabolism [J]. *Nature Cell Biology*, 2011, 13(9):1016 – 1023.
- 24 GUO Q H. Control of postmortem energy metabolism [D]. West Lafayette: Purdue University, 2006.