

徐 唱,刘佳佳,李 翠,等. 不同音乐对奶牛血液激素水平和抗氧化性能的影响[J]. 江苏农业科学,2017,45(14):126-130.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.14.035

不同音乐对奶牛血液激素水平和抗氧化性能的影响

徐 唱¹,刘佳佳¹,李 翠¹,张宝刚²,王捉东²,余 雄³

(1. 新疆农业大学动物科学学院,新疆乌鲁木齐 830052; 2. 新疆伊犁中洲公司巴彦岱牛场,新疆伊宁 835000;
3. 新疆肉乳用草食动物营养重点实验室,新疆乌鲁木齐 830052)

摘要:为了研究民谣音乐、爵士乐、提琴轻音乐对奶牛血液激素水平和抗氧化性能的影响,试验采用产奶量、年龄、胎次、泌乳期相近的荷斯坦泌乳牛 64 头,随机分成 4 组,即民谣音乐组、爵士乐组、提琴轻音乐组、对照组,每组 16 头。试验组早、中、晚 3 次给料时间各播放音乐 2 h,试验 3 组音乐分别选用民谣音乐、爵士乐、提琴轻音乐中各自最典型的音乐 20 首,对照组常规饲喂。正试期当天起(0 d),每隔 20 d 采集奶样、血液各 1 次。预试期 7 d,正试期 60 d。试验结果表明,试验期 0~60 d,提琴轻音乐组体细胞数均低于对照组,试验第 20 天,提琴轻音乐组乳糖含量较对照组高,处理间差异极显著;试验期 0~60 d,提琴轻音乐组奶牛血液中 T3、T4 含量高于对照组,处理间差异显著;试验期 0~60 d,提琴轻音乐组奶牛血清中 T-AOC、SOD、GSH-PX 含量较对照组高,MDA 含量较对照组低。表明提琴轻音乐可以降低奶牛乳房炎发病率(SCC 下降),提升奶牛血清 T3、T4 增强机体免疫反应,增加基础代谢率;提升奶牛机体抗氧化性能(提高 T-AOC、SOD、GSH-PX,降低 MDA)。

关键词:民谣音乐;爵士乐;提琴轻音乐;体细胞数;血液激素水平;抗氧化能力

中图分类号: S823.9⁺14 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)14-0126-04

近年来,音乐已被开发成人类疾病治疗(音乐治疗)的精神药物,提高动物生产性能的精神食粮。动物会对音乐刺激产生声应激,并对自身生产性能产生影响,近年来,有关音乐对奶牛产奶性能影响的研究已见报道^[1]。音乐刺激能够促进动物听觉中枢神经的发育和结构的分化^[2-5],也能够对内脏活动及情绪等起到协调作用,同时通过神经中枢调节机体内分泌,减缓疲劳、降低焦虑情绪。轻音乐能提高奶牛血液中 T3 含量,提高奶牛机体抗氧化能力^[6]。本试验通过民谣音乐、爵士乐、提琴轻音乐对奶牛血液激素水平和抗氧化性能的影响,以期明确民谣音乐、爵士乐、提琴轻音乐能否影响奶牛抗氧化性能。

1 材料与方法

1.1 试验设计与动物选择

试验选用年龄为 4~6 岁,胎次为 2~3 胎,产奶量接近,饲养管理水平完全相同,健康状况良好的荷斯坦泌乳牛 64 头,随机分成 4 组,每组 16 头。试验前先测定各组奶牛生长环境的背景分贝数。预试期开始试验 I 组、试验 II 组、试验 III 组奶牛栏中用益声音乐播放系统分别播放民谣(70 dB,旋律曲调简单)、爵士乐(70 dB,节奏极其复杂)、提琴轻音乐(70 dB,旋律优美动听,节奏悠扬舒畅),在早、中、晚挤奶前

各播放 2 h。民谣音乐选用孙浩《中华民谣》、鲍勃·迪伦《随风飘逝》、哈利斯《民歌交响曲》等最典型的音乐共 20 首;爵士乐选用查特贝克《Almost Blue》、吉尔史考特海伦《Lady Day and John Coltrane》、李·戴莉《East of the Sun》等最典型的音乐共 20 首;提琴轻音乐选用舒曼《梦幻曲》、舒伯特《小夜曲》、柴可夫斯基《旋律》等最典型的音乐共 20 首。试验期 0~60 d 试验 3 组分别播放各自类型音乐 20 首,播放过程中保持音量恒定。对照组常规饲喂。预试期 7 d,正试期 60 d。

1.2 试验日粮与饲养管理

试验基础日粮参考 NRC(2001)配制,日粮组成及营养水平见表 1。饲养试验于 2015 年 11 月 10 日至 2016 年 1 月 10 日在新疆伊犁中洲公司巴彦岱牛场进行。试验 I 组、试验 II 组、试验 III 组、对照组奶牛分别置于 2 个牛舍内饲喂,且 2 个牛舍相距 200 m 以上,同一牛舍内 2 组间相距 100 m 以上,隔音效果良好。试验 I 组、试验 II 组、试验 III 组牛舍内墙壁与运动场墙壁每隔 3 m 安装 1 个小喇叭,试验组牛舍内与运动场的音量均衡。整个试验期内试验牛每天 09:00 供料 1 次,自由采食,自由饮水,其他饲养管理水平一致。

1.3 样品采集与指标

试验 0、20、40、60 d 测定单产(分别测定 4 组试验牛早、中、晚 3 次产奶量);同时,弃头道奶,取奶样 100 mL(采样分早、中、晚 3 次,以 4:3:3 比例收集奶样,采样前奶样瓶中加入重铬酸钾作为防腐剂),置于 -20 ℃ 冰箱保存,送至新疆农业大学动物营养实验室使用乳成分分析仪(Ul80BC)和 Fossomatic TM Minor 体细胞分析仪分别检测乳成分和体细胞数。试验 0、20、40、60 d 所有试验牛尾静脉采血 10 mL(采样时间为 05:00 奶牛未进食前),常温促凝,4 ℃ 平衡 30 min 后,3 500 r/min 离心 15 min 取上清,1.5 mL 离心管分装, -20 ℃ 保存备用。血清送至北京华英生物技术研究所,采用日本日

收稿日期:2017-01-09

基金项目:国家科技支撑计划(编号:2012BAD12B09-2);现代农业产业技术体系(奶牛)建设专项(编号:CARS-37);中国博士后基金(2012)。

作者简介:徐 唱(1989—),男,新疆玛纳斯人,硕士研究生,研究方向为反刍动物营养。E-mail:103907318@qq.com

通信作者:余 雄,教授,博士生导师,研究方向为奶牛生产技术。E-mail:yuxiong8763601@126.com。

表 1 奶牛日粮组成及营养成分

原料	含量(%)
精料补充料	46.00
玉米青贮	29.00
苜蓿草	20.40
棉籽粕	3.60
食盐	0.50
小苏打	0.50
粗脂肪	5.23
粗蛋白质	16.94
中性洗涤纤维	40.36
酸性洗涤纤维	23.16
钙	1.26
磷	0.65

立 7160 全自动生化仪和 r-911 全自动放免计数仪分别进行比色和放免测定,测定指标为三碘甲状原氨酸(T3)、甲状腺素(T4)、总抗氧化能力(T-AOC)、超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽-过氧化物酶(GSH-PX)、丙二醛(MDA)。

表 2 不同音乐对奶牛乳中体细胞数和乳成分的影响

项目	处理时间(d)	民谣音乐组	爵士乐组	提琴轻音乐组	对照组
体细胞数(×10 ³ 个)	0	223.17a±230.25	208.58a±227.55	225.50a±184.32	251.92a±181.81
	20	213.73a±142.84	215.83a±152.73	217.40a±203.12	234.40a±240.95
	40	128.11a±75.96	179.69a±179.42	120.36a±74.01	145.71a±123.82
	60	226.64a±151.69	274.50a±158.32	165.80a±145.05	168.70a±148.77
	0~60	201.74a±163.75	240.56a±219.44	160.73a±153.27	193.35a±183.63
乳糖(%)	0	5.34a±0.32	5.15a±0.64	5.30a±0.31	5.44a±0.21
	20	5.14b±0.19	5.20ab±0.28	5.41Aa±0.21	4.98Bb±0.49
	40	5.36a±0.60	4.98a±0.72	5.60a±0.43	5.10a±0.40
	60	5.42a±0.16	5.44a±0.30	5.58a±0.21	5.48a±0.25
	0~60	5.23a±0.38	5.13a±0.52	5.50a±0.34	5.27a±0.40
乳脂率(%)	0	3.59a±1.11	3.55a±1.19	3.61a±0.66	3.56a±1.08
	20	3.21a±0.58	3.84a±0.80	4.07a±1.04	3.42a±0.71
	40	3.57a±1.03	3.81a±1.41	3.78a±0.51	3.77a±0.53
	60	2.40a±0.55	2.65a±1.14	2.39a±0.67	2.30a±0.7
	0~60	3.28a±0.99	3.72a±1.14	3.38a±1.29	3.27a±1.07
乳蛋白(%)	0	3.50a±0.23	3.37a±0.44	3.47a±0.21	3.57a±0.15
	20	3.36a±0.13	3.55a±0.15	3.43a±0.20	3.26a±0.33
	40	3.51a±0.43	3.46a±0.48	3.66a±0.30	3.34a±0.27
	60	3.60a±0.10	3.57a±0.20	3.57a±0.14	3.57a±0.17
	0~60	3.49a±0.27	3.49a±0.35	3.53a±0.23	3.45a±0.27

注:同行数据后不同小写、大写字母分别表示差异显著(P<0.05)、极显著(P<0.01)。表 3、表 4 同。

2.2 不同音乐对奶牛血液相关激素水平的影响

从表 3 可以看出,试验后 20 d,提琴轻音乐组、对照组奶牛血液中 T3 含量较爵士乐组分别高 11.32%、10.48%,处理间差异显著;试验后 40 d,提琴轻音乐组、对照组奶牛血液中 T3 含量较民谣音乐组分别高 12.82%、8.93%,处理间差异显著;试验后 60 d,提琴轻音乐组、对照组奶牛血液中 T3 含量较民谣音乐组分别高 14.66%、11.93%,处理间差异显著;试验期 0~60 d,民谣音乐组奶牛血液中 T3 含量低于对照组,但差异不显著,爵士乐组奶牛血液中 T3 含量低于对照组 8.33%,处理间差异显著;提琴轻音乐组奶牛血液中 T3 含量较对照组高,但差异不显著;提琴轻音乐组奶牛血液中 T3 含量较爵士乐组高 14.66%,处理间差异显著。试验后 20 d,提琴轻音乐组奶牛血液中 T4 含量较爵士乐组高 17.35%,处理间差异显

1.4 数据处理

试验数据首先用 Excel 2003 软件进行整理,采用 SPSS 17.0 软件进行统计分析,试验数据以“平均值±标准差”表示,采用单因素方差分析进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 不同音乐对奶牛乳中体细胞数和乳成分的影响

从表 2 可以看出,试验期 0~60 d,民谣音乐组、爵士乐组体细胞数均高于对照组,但处理间差异不显著,提琴轻音乐组体细胞数较对照组低,但差异不显著。试验后 20 d,提琴轻音乐组乳糖含量较对照组高 7.95%,差异极显著;试验期 0~60 d,民谣音乐组、爵士乐组乳糖含量均低于对照组,但处理间差异不显著,提琴轻音乐组乳糖含量较对照组高,但差异不显著。试验期 0~60 d,民谣音乐组、爵士乐组、提琴轻音乐组乳脂率均低于对照组,但处理间差异不显著。试验期 0~60 d,民谣音乐组、爵士乐组、提琴轻音乐组乳蛋白含量均低于对照组,但处理间差异不显著。

著;试验期 0~60 d,民谣音乐组、爵士乐组奶牛血液中 T4 含量均低于对照组,但差异不显著,提琴轻音乐组奶牛血液中 T4 含量较对照组高,但差异不显著。

2.3 不同音乐对奶牛血液抗氧化指标的影响

从表 4 可以看出,试验后 20 d,提琴轻音乐组奶牛血液中 T-AOC 含量较对照组高 6.56%,处理间差异显著;试验后 40 d,爵士乐组奶牛血液中 T-AOC 含量较民谣音乐组高 5.60%,处理间差异显著;试验后 60 d,提琴轻音乐组奶牛血液中 T-AOC 含量较民谣音乐组高 10.58%,处理间差异显著;试验期 0~60 d,民谣音乐组、爵士乐组奶牛血液中 T-AOC 含量均低于对照组,但差异不显著,提琴轻音乐组奶牛血液中 T-AOC 含量较爵士乐组、对照组、民谣音乐组分别高 4.02%、4.57%、5.31%,处理间差异显著。

表 3 不同音乐对奶牛血液相关激素水平的影响

项目	处理时间(d)	民谣音乐组	爵士乐组	提琴轻音乐组	对照组
三碘甲状腺原氨酸(ng/mL)	0	1.07a±0.10	1.05a±0.10	1.07a±0.11	1.05a±0.15
	20	1.01ab±0.07	0.94b±0.08	1.06a±0.11	1.05a±0.12
	40	1.02b±0.13	1.10ab±0.10	1.17a±0.07	1.12a±0.13
	60	0.96b±0.13	1.03ab±0.12	1.13a±0.10	1.09a±0.08
	0~60	1.03ab±0.13	0.99b±0.11	1.16a±0.10	1.08a±0.12
甲状腺素(ng/mL)	0	60.40a±11.61	65.41a±8.23	66.33a±9.46	59.65a±8.49
	20	54.21ab±8.22	50.84b±2.71	61.51a±11.22	54.82ab±11.01
	40	60.29a±11.96	60.17a±10.19	59.74a±10.23	61.71a±12.31
	60	52.04a±5.87	50.10a±7.52	54.81a±10.17	54.08a±10.67
	0~60	56.67a±10.14	56.63a±9.89	60.49a±10.83	57.55a±10.97

表 4 不同音乐对奶牛血液抗氧化指标的影响

项目	处理时间(d)	民谣音乐组	爵士乐组	提琴轻音乐组	对照组
总抗氧化能力(U/mL)	0	10.69a±0.31	10.26a±0.72	10.49a±0.32	10.63a±0.47
	20	10.55ab±0.40	10.05ab±0.43	10.82a±0.19	10.11b±0.23
	40	10.30b±0.30	10.81a±0.42	10.52ab±0.50	10.51ab±0.54
	60	9.89b±0.73	10.33ab±0.82	11.06a±0.64	10.50ab±0.80
	0~60	10.35b±0.55	10.29b±0.66	10.93a±0.49	10.43b±0.57
超氧化物歧化酶(U/mL)	0	70.83a±4.83	76.39a±7.23	71.72a±1.36	73.68a±6.03
	20	70.54b±4.63	70.91b±6.15	78.25a±6.33	73.41ab±11.22
	40	75.23a±9.90	75.19a±8.81	73.65a±4.67	71.51a±4.77
	60	66.72Bb±6.58	68.49Bb±1.91	82.18Aa±5.05	80.78Aa±5.73
	0~60	70.83b±7.34	73.00ab±7.27	79.26a±6.21	75.10ab±8.15
丙二醛(nmol/mL)	0	4.68a±0.33	4.40a±0.60	4.68a±0.33	4.71a±0.29
	20	4.54a±0.38	4.67a±0.63	4.72a±0.32	4.45a±0.65
	40	4.30a±0.53	4.10a±0.60	4.39a±0.51	4.30a±0.55
	60	4.13Aa±0.66	3.71b±0.21	3.60Bb±0.37	3.63Bb±0.35
	0~60	4.41a±0.53	4.42a±0.64	4.34a±0.59	4.37a±0.62
谷胱甘肽-过氧化物酶(U/mL)	0	861.64a±152.32	883.55a±258.55	880.24a±132.69	852.06a±69.56
	20	1 030.17Aa±137.73	767.40Bb±158.13	933.07ABab±94.69	867.01ABab±137.23
	40	891.04a±150.54	926.79a±213.03	831.73a±60.97	978.86a±155.61
	60	775.05Bc±120.12	842.99Bc±179.09	1105.16Aa±89.06	949.79b±61.30
	0~60	889.98a±165.43	880.19a±216.52	938.59a±140.91	913.48a±124.84

试验后 20 d,提琴轻音乐组奶牛血液中 SOD 含量分别较民谣音乐组、爵士乐组高 9.85%、9.38%,处理间差异显著;试验后 60 d,民谣音乐组、爵士乐组奶牛血液中 SOD 含量分别低于对照组 17.41%、15.21%,处理间差异极显著;民谣音乐组、爵士乐组奶牛血液中 SOD 含量分别低于提琴轻音乐组 18.81%、16.66%,处理间差异极显著;试验期 0~60 d,民谣音乐组、爵士乐组奶牛血液中 SOD 含量均低于对照组,但差异不显著;提琴轻音乐组奶牛血液中 SOD 含量较对照组高,但差异不显著;提琴轻音乐组奶牛血液中 SOD 含量较民谣音乐组高 10.64%,处理间差异显著。

试验后 60 d,民谣音乐组奶牛血液中 MDA 含量较爵士乐组高 10.17%,处理间差异显著;民谣音乐组奶牛血液中 MDA 含量较对照组、提琴轻音乐组分别高 12.11%、12.83%,处理间差异极显著;试验期 0~60 d,民谣音乐组、爵士乐组奶牛血液中 MDA 含量均高于对照组,但差异不显著;提琴轻音乐组奶牛血液中 MDA 含量低于对照组,但差异不显著。

试验后 20 d,民谣音乐组、提琴轻音乐组奶牛血液中 GSH-PX 含量均高于对照组,但差异不显著;爵士乐组奶牛血液中 GSH-PX 含量低于对照组,但差异不显著;民谣音乐

组奶牛血液中 GSH-PX 含量较爵士乐组高 25.51%,处理间差异极显著;试验后 60 d,民谣音乐组、爵士乐组奶牛血液中 GSH-PX 含量较对照组分别低 18.40%、11.24%,处理间差异显著;提琴轻音乐组奶牛血液中 GSH-PX 含量高于对照组 14.06%,处理间差异显著;民谣音乐组、爵士乐组奶牛血液中 GSH-PX 含量分别较提琴轻音乐组低 29.87%、23.72%,处理间差异极显著;试验期 0~60 d,民谣音乐组、爵士乐组奶牛血液中 GSH-PX 含量较提琴轻音乐组低,但差异不显著;提琴轻音乐组奶牛血液中 GSH-PX 含量较对照组高,但差异不显著。

3 讨论与结论

3.1 不同音乐对奶牛乳中体细胞数和乳成分的影响
奶牛乳成分是相对稳定的,但各自也有一定的变化范围^[7],适宜的音乐刺激可以改善动物的不良情绪,提高其学习和记忆能力,而且音乐对动物的上述有益影响还有利于促进养殖业提高动物的饲养水平及疾病防治水平^[8]。牧场奶牛隐性乳房炎的发病情况与体细胞数之间呈正相关性^[9]。试验后 20、40、60 d 及 0~60 d,提琴轻音乐组体细胞数均低

于对照组,表明提琴轻音乐可降低奶牛乳房炎发病概率,进而使体细胞数下降。试验期 0~60 d,民谣音乐组、爵士乐组体细胞数均高于对照组,这表明民谣音乐、爵士乐会使奶牛乳房炎发病概率升高,体细胞数上升。奶牛乳中乳糖含量是监测乳房炎的重要指标,隐性乳房炎奶牛其乳腺组织遭到破坏,毛细血管破裂,血液溶入牛乳中。血液中的离子和无机盐等成分会使牛乳的渗透压降低,制约了乳糖向牛乳中分泌,这也是导致牛乳中乳糖含量下降的原因^[2]。试验后 40、60 d 及 0~60 d,提琴轻音乐组乳糖含量均高于对照组,试验后 20 d,提琴轻音乐组乳糖含量极显著高于对照组,试验期 0~60 d,民谣音乐组、爵士乐组乳糖含量均低于对照组,试验结果表明,奶牛体细胞数与乳糖含量呈负相关。甘宗辉等报道,随着体细胞数的增高,乳糖率会明显降低^[10],本试验结果与其一致。试验期 0~60 d,民谣音乐组、爵士乐组、提琴轻音乐组牛乳中乳脂率、乳蛋白与对照组无显著差异,表明民谣音乐、爵士乐、提琴轻音乐对乳脂率、乳蛋白无显著影响。从本试验结果可看出,提琴轻音乐可以降低奶牛乳房炎发病概率。

3.2 不同音乐对奶牛血液相关激素水平的影响

本试验结果显示,试验期 0~60 d,提琴轻音乐组奶牛血液中 T3 含量高于对照组,表明提琴轻音乐可提高奶牛血清 T3 含量。查满千的研究显示,在其试验 20 d 时,大提琴音乐组 T3 含量显著高于对照组^[11],本研究结果与其一致。试验 0~60 d,提琴轻音乐组体细胞数低于对照组,这可能是提琴轻音乐可以提升奶牛血清 T3 含量,提高机体免疫力,进而降低奶牛体细胞数。谢启文报道,T3 能够提高机体免疫力^[12]。本试验结果与其一致。试验期 0~60 d,民谣音乐组奶牛血液中 T3 含量低于对照组;爵士乐组奶牛血液中 T3 含量显著低于对照组,表明民谣音乐会降低奶牛血清 T3 含量,爵士乐会显著降低奶牛血清 T3 含量。查满千的研究显示,在其试验 20 d 时,小提琴组 T3 含量极显著低于对照组^[11],本研究结果与其一致。T4 可以加强肠管对葡萄糖的吸收,增加细胞对葡萄糖的吸收和糖原的分解,增强外周对葡萄糖的利用,还可以促进脂肪分解,使基础代谢率增高^[13]。试验期 0~60 d,提琴轻音乐组奶牛血液中 T4 含量高于对照组。查满千的研究显示,在其试验 40 d 时,低音提琴组 T4 含量显著低于对照组^[11],本研究结果与其一致,表明提琴轻音乐可以提升奶牛血清 T4 含量,提高基础代谢率。

3.3 不同音乐对奶牛血液抗氧化指标的影响

T-AOC 是衡量机体抗氧化系统功能状况的一个综合指标,T-AOC 的值反映机体抗氧化酶系统以及机体自由基代谢状况^[14],SOD 能消除生物体在新陈代谢过程中产生的有害物质,SOD 的活性可以相对地反映出硒在体内清除自由基的程度^[15],GSH-PX 是生物体内广泛存在的一种抗氧化物酶^[16],MDA 的含量可反映机体内脂质过氧化程度,并间接地反映出细胞损伤程度^[17]。本试验结果,试验期 0~60 d,提琴轻音乐组奶牛血清中 T-AOC、SOD、GSH-PX 含量均较对照组高,而提琴轻音乐组奶牛血清中 MDA 含量较对照组低。查满千报道,大提琴演奏的音乐能够显著提升 SOD 含量;小提琴演奏的音乐能够显著提升奶牛血清中 GSH-PX 含量,降低 MDA 含量;低音提琴演奏的音乐能够显著提升 T-AOC,降低 MDA 含量^[11],本研究结果与其一致,表明提琴轻

音乐可提升奶牛机体抗氧化性能,能加快消除代谢中产生的有害物质,降低细胞损伤程度。

试验期 0~60 d,民谣音乐组、爵士乐组奶牛血液中 T-AOC、SOD、GSH-PX 含量均低于对照组,而民谣音乐组、爵士乐组奶牛血液中 MDA 含量较对照组高。范石军等报道,在热应激条件下,动物机体代谢过程紊乱,氧自由基的产生量增加,同时抗氧化酶活性下降^[18]。本研究结果与范石军等的研究结果一致,表明民谣音乐、爵士乐不能提升奶牛机体抗氧化性能,会减慢消除代谢中产生的有害物质,增加细胞损伤程度。

提琴轻音乐可以降低奶牛乳房炎发病概率(SCC 下降),提升奶牛血清 T3、T4 增强机体免疫反应,提高基础代谢率;提升奶牛机体抗氧化性能(提高 T-AOC、SOD、GSH-PX,降低 MDA)。民谣音乐、爵士乐不能提升奶牛机体抗氧化性能。

参考文献:

- [1]刘佳佳,文佳军,余雄.不同音乐对奶牛产奶性能影响的研究[J].黑龙江畜牧兽医,2015(2):28-33.
- [2]余如瑾,郭霞珍.角调、羽调对正常小鼠及慢性应激模型小鼠学习记忆功能的影响[J].中国中医药信息杂志,1999,6(10):28-30.
- [3]Faverjon S,Silveira D C,Fu D D,et al. Beneficial effects of enriched environment following status epilepticus in immature rats [J]. Neurology,2002,59(9):1356-1364.
- [4]Panicker H,Wadhwa S,Tara S R. Effect of prenatal sound stimulation on medio rostral neostriatum hyperstriatum ventrale region of chick forebrain: a morphometric and immunohistochemical study [J]. Chemical Neuroanatomy,2002,24(2):127-135.
- [5]Peiffer A M,Rosen G D,Fitch R H. Rapid auditory processing and MGN morphology in microgyric rats reared in varied acoustic environments [J]. Developmental Brain Research,2002,138(2):187-193.
- [6]刘佳佳.不同音乐元素对奶牛产奶性能影响的研究[D].乌鲁木齐:新疆农业大学,2016.
- [7]马占峰,刘洪芳.影响牛奶成分的因素[J].中国奶牛,2012(1):44-46.
- [8]李靖,王旭东.音乐治疗效应的动物实验研究[J].四川动物,2007(1):196-197.
- [9]王希春,李培,吴金节.奶牛隐性乳房炎对牛奶中体细胞数及品质的影响[J].中国奶牛,2008(4):49-51.
- [10]甘宗辉,杨章平,李云龙,等.奶牛乳房炎的细菌感染与奶中体细胞数及乳成分的关系[J].畜牧兽医学报,2013,44(6):972-979.
- [11]查满千.乐器演奏的音乐对奶牛泌乳性能的影响[D].乌鲁木齐:新疆农业大学,2016.
- [12]谢启文.现代神经内分泌学[M].上海:上海医科大学出版社,1999:84-156.
- [13]杨秀平.动物生理学[M].北京:高等教育出版社,2002.
- [14]朱宏娟.不同硒源及硒水平对肉仔鸡生产性能和血液抗氧化指标的影响[D].长沙:湖南农业大学,2006.
- [15]Pamantidis V,Bermano G,Villette S. Effects of Se-depletion on glutathione peroxidase and selenoprotein W gene expression in the colon [J]. FEBS Letters,2005,579(3):792-796.
- [16]Barnes K M,Evenson J K,Raines A M. Transcript analysis of the selenoproteome indicates that dietary Selenium requirements of rats

高宝德, 张晓丽, 刘海燕, 等. 盘羊杂交羊 *SPLUNC1* 融合蛋白的真核表达[J]. 江苏农业科学, 2017, 45(14): 130–133.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.14.036

盘羊杂交羊 *SPLUNC1* 融合蛋白的真核表达

高宝德¹, 张晓丽², 刘海燕², 张彦兵¹, 孙延鸣²

(1. 石河子大学生命科学学院, 新疆石河子 832003; 2. 石河子大学动物科技学院, 新疆石河子 832003)

摘要: 为构建盘羊杂交羊 *SPLUNC1* 基因的真核表达载体并在巴斯德毕赤酵母中表达, 从盘羊杂交羊口腔上颌的上皮细胞中提取总 RNA, 并反转录成 cDNA, 以该 cDNA 为模板采用逆转录 PCR (RT-PCR) 法克隆盘羊杂交羊 *SPLUNC1* 基因开放阅读框, 并克隆到 pPIC9K 载体中, 构建真核表达载体 pPIC9K-SPLUNC1, 再将重组质粒电转至毕赤酵母 GS115 中进行表达, 表达产物经 Ni-NTA 琼脂亲和层析纯化, 并利用聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 和蛋白质印迹 (Western Blot) 方法检测。结果显示, 目的基因大小 758 bp, 重组表达质粒 pPIC9K-SPLUNC1 经双酶切、PCR 及测序鉴定构建成功; 表达产物经 SDS-PAGE 分析, 可见大小为 25.96 ku 的目的条带, 且在 72 h 表达量最大; 纯化后经 SDS-PAGE 和 Western Blot 分析, 可见大小为 25.96 ku 的目的条带。研究结果表明, 利用真核表达系统在体外成功表达并纯化了盘羊杂交羊 *rSPLUNC1* 蛋白, 为深入研究盘羊杂交羊 *SPLUNC1* 蛋白的生物学功能奠定基础。

关键词: 盘羊杂交羊; 短颌、肺及鼻咽上皮细胞克隆 1; 融合蛋白; 真核表达

中图分类号: Q786 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)14-0130-04

气道上皮细胞构成宿主防御的第一道防线, 上皮细胞分泌物有助于防止病原体侵害, 协调免疫反应, 并限制肺损伤。呼吸道分泌物含有大量蛋白质, 这些蛋白很多是由上皮细胞分泌的, 并在黏膜纤毛的清除、抗菌防御和免疫调节中有很重要的作用。其中短颌、肺及鼻咽上皮细胞克隆 1 (short palate, lung and nasal epithelium clone 1, 简称 *SPLUNC1*) 基因就高效表达于口腔、鼻腔、鼻咽部及呼吸道黏膜^[1]。

很多研究表明 *SPLUNC1* 是呼吸道黏膜分泌的具有抗菌活性的重要蛋白, 体外的研究表明, 重组人 *SPLUNC1* 被证实具有杀灭流感嗜血杆菌的抗菌活性^[2]。Zhou 等研究证明, 使用不同浓度重组人 *SPLUNC1* 蛋白, 可以减少铜绿假单胞菌的生长且具有剂量依赖性^[3]。许多研究证实 *SPLUNC1* 在体内也具有较强的抗菌活性。Di 研究证实, 在被铜绿假单胞菌和肺炎克雷伯菌感染时, 过表达人 *SPLUNC1* 的转基因小鼠比野生型小鼠抗菌活性明显增强^[4]。此外, 过表达人 *SPLUNC1* 的转基因小鼠与同窝出生的野生型小鼠相比对肺炎支原体 (*Mycoplasma pneumoniae*, 简称 Mp) 感染的抵抗力显著增强^[5]。据报道, 重组小鼠 *SPLUNC1* 蛋白可显著抑制 Mp 的生长且具有剂量依赖性^[6]。研究还表明, *SPLUNC1* 具有结合革兰氏阴性菌脂多糖的能力^[7-8]。相关研究显示, 用逆转录 PCR

(RT-PCR) 法检测鼻咽癌活检组织的 *SPLUNC1* mRNA 表达水平, 发现其比正常组织的表达量明显下降, 推测 *SPLUNC1* 可能是鼻咽癌的抑癌基因^[9]。但目前对 *SPLUNC1* 功能的研究主要集中在人和鼠, 还未见羊的有关该基因功能的相关报道。因此, 本试验通过构建盘羊杂交羊 *SPLUNC1* 基因真核表达载体, 利用巴斯德毕赤酵母对 *SPLUNC1* 基因进行表达, 使用 Western Blot 对目的蛋白检测, 为研究盘羊杂交羊 *SPLUNC1* 蛋白的生物学功能奠定基础。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 试剂 大肠杆菌 DH5 α 由笔者所在实验室保存; T4 DNA 连接酶 (天根生化科技有限公司); 反转录试剂盒、*Sna*B I、*Not* I、*Sac* I 和 *Taq* 聚合酶, 均购自 TaKaRa 公司; 酵母氮碱 (YNB)、G418、生物素, 均购自索莱宝科技有限公司; 蛋白 Marker (Thermo); 酵母基因组 DNA 快速提取试剂盒、质粒小量提取制备试剂盒、琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒、DNA Marker DL2501 和 DNA Marker DL2503, 购自上海捷瑞生物工程有限公司; Ni-NTA 琼脂 (QIAGEN 公司); 封闭液、一抗 (Anti-His Antibody), 购自天根生化科技 (北京) 有限公司; 二抗辣根酶标记山羊抗小鼠 IgG (北京诺博莱德科技有限公司); 蛋白预染 Marker (北京全式金生物技术有限公司); GS115 菌株及 pPIC9K 由新疆农垦科学院兽医研究所薄新文研究员馈赠。

1.1.2 试验动物 盘羊杂交羊 F₁ 5 只, 由石河子绿洲动物园提供。

响[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2011.

[18] 范石军, 韩友文, 李德发, 等. 雏鸡高温应激与超氧化处理对其肝脏丙二醛和谷胱甘肽过氧化物酶含量及活性的影响[J]. 中国饲料, 2001(10): 11–13.

收稿日期: 2016-03-21

基金项目: 国家自然科学基金 (编号: 31460686)。

作者简介: 高宝德 (1988—), 男, 甘肃白银人, 硕士, 研究方向为动物学。E-mail: 1369820915@qq.com。

通信作者: 孙延鸣, 博士, 教授, 主要研究方向为临床兽医学。

E-mail: sym@shzu.edu.cn。

based on selenium-regulated selenoprotein mRNA levels are uniformly less than those based on glutathione peroxidase activity [J]. Journal of Nutrition, 2009, 139(2): 199–206.

[17] 倪丽丽. 有机硒对奶牛瘤胃发酵、抗氧化功能及免疫功能的影响