DOI:10.16016/j.1000-5404.1989.01.013

饲料蛋白质质量对幼年大鼠骨骼肌蛋白代谢的影响

陈东升 杨家驹 黄国荣 （卫防系 军队卫生学教研室）

提 要 本文通过对幼年大鼠骨骼肌细胞RNA相对含量的显微分光测定和尿中3-甲基组氨酸的分析，观察了不同质量饲料蛋白质对大鼠骨骼肌蛋白质代谢的影响。结果显示，不同质量的蛋白质喂养动物，动物骨骼肌细胞RNA含量存在显著差异，RNA含量与饲料蛋白质的氨基酸分之间呈高度正相关（r=0.958）；尿中3-甲基组氨酸排出量也随饲料蛋白质质量提高而增大。据此认为，优质蛋白质促进动物生长发育，主要是加强了机体蛋白质的合成代谢，而不是降低了分解代谢。

关键词 饮食分析； 肌蛋白； 3-甲基组氨酸； 核糖核酸

动物的生长发育同机体蛋白质的代谢状态存在密切关系，因为体蛋白的贮存量是以蛋白质的合成与分解代谢平衡的变化为转移的。本文通过对骨骼肌蛋白代谢物和细胞RNA的测定，对饲料蛋白质质量和幼年大鼠体蛋白代谢的关系作进一步观察。

材料与方法

一、饲料配制

各实验饲料的组成（见表1）。各饲料的总含氮量在1.6%左右。混合无机盐和维生素按AOAC[1]标准配比。经测定，各饲料蛋白质净利用率（NPU）依高低顺序于表1。饲料的氮含量用自动凯氏定氮仪测定（Tecator Kjetec 1030 Auto Analyzer），氨基酸含量用氨基酸分析仪测定（日立835-50型），其中色氨酸用荧光分光法测定。

表1 实验饲料组成成分 单位：%

成份	面粉组	花粉+面粉组	花粉组	破壁花粉组	酪蛋白组
酪蛋白	0	0	0	0	12
花粉	0	0	37	0	0
破壁花粉	0	10	0	28.8	0
面粉	80	60	0	0	0
面筋蛋白	2.5	0	0	0	0
玉米淀粉	4.5	17.5	51.2	59.4	75
玉米油	5	5	5	5	5
混合Vit●	1	1	1	1	1
混合无机盐●	5	5	4.8	4.8	5
纤维素	2	1.5	1	1	2
实测含N量	1.62	1.62	1.63	1.60	1.71
蛋白质净利用率	41.0	49.7	60.4	64.5	68.5

●按AOAC标准配制[1]

二、动物实验方法

雄性Wistar断奶大鼠50只饲以常备粉状饲料适应3天。分组前3h撤水、食，按随机单位组设计分为5组（表1中的5组），每组10只，各组平

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

均体重为49.45±0.16g。然后给予不同的实验饲料，喂养至第10天，随机从各组中取4只动物，股动脉放血杀死。各组余下6只动物喂养至第15天，连续收集5天尿于加有0.1%石炭酸溶液的三角瓶中。

（一）骨骼肌细胞RNA含量测定方法　动物杀死后，即取股部骨骼肌于10%甲醛溶液固定8h，常规包埋、切片，用甲基绿-焦宁染色[2]。为了排除非特异性染色和细胞核DNA的影响，用RNA酶（上海生物制品研究所）、DNA酶（Sigma公司）消化切片，作对照染色。然后用MPV-3显微细胞分光光度计测定100个细胞视野，积分计算细胞视野中RNA平均相对含量。

（二）尿中3-甲基组氨酸（3-MH）测定方法　除破壁花粉组和酪蛋白+1%蛋氨酸组动物尿液定容至250ml外，其他各组定容到150ml。各组取尿液50ml，3500r/min离心10min，吸出上清液，通入$N_2$10min后，加等量12 N HCl，密封放入106℃烤箱水解20h，将N-乙酰-3-MH转变为3-MH。然后分次倒入蒸发皿，在100℃水浴蒸干，用0.1N HCl洗尽蒸发皿中残留物，再以3500r/min离心10min、过滤，定容到3 ml。上氨基酸分析仪（Beckman 121MB）用短程序快速测定。

实验结果

一、实验饲料的氨基酸模式及计分

从表2中可以看出，饲料蛋白质NPU越高，其蛋白质氨基酸构成模式与FAO/WHO标准模式较接近。用各饲料蛋白质的第一限制氨基酸，按下式计算得到的氨基酸分于表2。

$$\text{氨基酸分} = \frac{\text{每克待评蛋白质某}\\ \text{氨基酸含量（mg）}}{\text{FAO/WHO模式相}\\ \text{应氨酸含量（mg）}} \times 100$$

表2　各实验饲料的必需氨基酸模式（mg/gN）及计分

氨基酸	面粉	面粉+花粉	花粉	破壁花粉	酪蛋白	FAO/WHO模式
亮氨酸	445	447	431	456	675	440
异亮氨酸	224	247	318	293	338	250
苏氨酸	167	222	263	281	288	250
含硫氨基酸	246	231	169	200	231	220
赖氨酸	153	254	369	450	544	340
苯丙+酪氨酸	284	537	588	1025	675	380
缬氨酸	264	290	337	344	444	310
色氨酸	71	82	94	103	91	60
氨基酸分	45	75	77	91	105	

二、骨骼肌细胞RAN含量测定结果

面粉组、面粉+10%花粉组、花粉组、破壁花粉组和酪蛋白质+1%蛋氨酸组动物骨骼肌细胞RNA含量，以各自与空白片相比较，用绝对吸光值为相对含量，分别为23.67±6.09、29.40±6.54、34.39±7.13、40.40±7.31和41.90±8.14。除破壁花粉组和酪蛋白+蛋氨酸组无显著差别外，其它各组均存在显著差别（$P<0.05—0.01$，见图1）。饲料蛋白质的氨基酸分同动物细胞RNA相对含量之间存在密切的相关关系（图2）。

三、尿中3-MH测定结果

表3表示各实验组动物5天排出3-MH总平均量和每天每g体重排出的平均量。结果表明，随

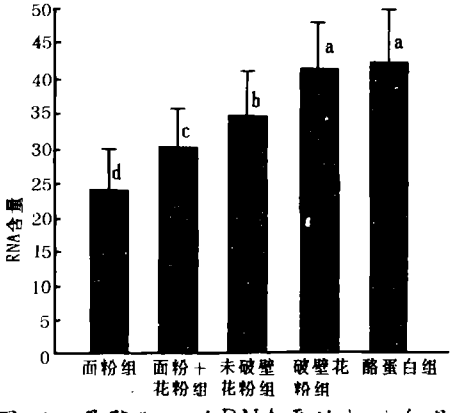


图1　骨骼肌细胞RNA平均相对含量骨
图中[a、b、c、d]不同者表示组间存在显著差异，$P<0.01\sim0.05$

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

着饲料蛋白质质量的升高，大鼠3-MH排出量增大。5天排出的总平均量与同期大鼠的增重量有平行关系（图3），并与饲料蛋白质NPU存在较高的相关性（图4）。

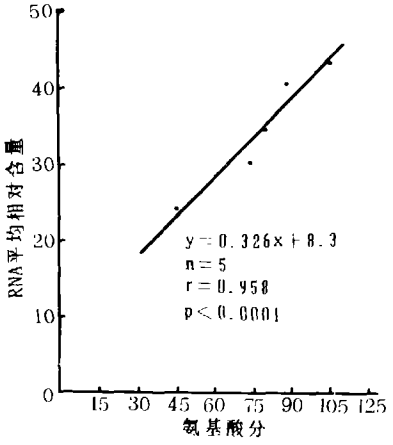


图2　细胞RNA含量与氨基酸分相关分析图

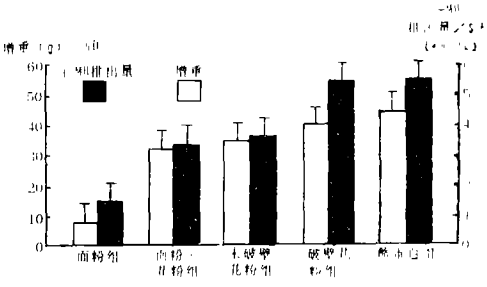


图3　3-MH排出量与增重关系图

表3　各组动物尿3-甲基组氨酸排出量（$\bar{X} \pm SD$）

组　　别	n	平均量（μmole）/5天	平均量（nmole）/g体重/天
面粉组	6	1.42 ± 0.16^{c}	4.11 ± 0.35^{c}
面粉+花粉组	6	3.35 ± 0.25^{b}	5.84 ± 0.34^{b}
花粉组	6	3.60 ± 0.18^{b}	6.48 ± 0.77^{ab}
破壁花粉组	6	5.32 ± 0.18^{a}	6.95 ± 1.28^{a}
酪蛋白组	6	5.43 ± 0.22^{a}	7.64 ± 0.60^{a}

n=动物数。〔a、b、c〕同列中字母不同表示存在显著差别（$P<0.05$）

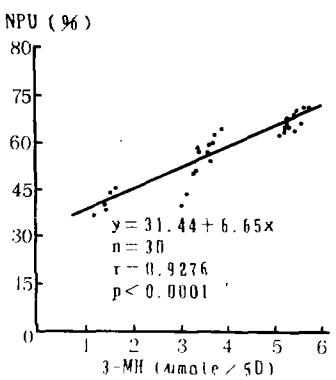


图4　3-MH排出量与NPU相关回归分析图

讨　论

我们对幼年大鼠单个骨骼肌细胞RNA含量测定的结果表明，饲料蛋白质的模式（表2）直接影响RNA含量（图1），这同Sampson[3]用其他方法所得的结果相一致。由于细胞RNA是机体蛋白质合成的信息物、氨基酸载体和场所，所以RNA含量能较直接地反映机体蛋白质的合成代谢情况。因此，可以认为高质量的饲料蛋白能加强幼年大鼠骨骼肌的蛋白质合成代谢。至于在不同质量饲料蛋白喂养下，细胞RNA含量的变化，可能是在DNA转录RNA环节上受到影响[4]。

尿中的3-MH是骨骼肌蛋白合成时，组氨酸甲基化形成的。它在机体中不参入代谢，当肌蛋白分解时，以原型和N-乙酰化衍生物从尿中排出[5][6]。因而，尿中3-MH总量可定量地反映机体蛋白的分解代谢情况。本实验结果表明，动物随食入蛋白质的

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

NPU提高，尿中5天3-MH排出总量和每天每g体重的排出量增高；质量接近的蛋白质喂养组动物无明显差别（表3），同期内动物3-MH的总排出量与增重间有平行关系（图3）。Perry[7]和Millward[8]实验证明，当蛋白质合成代谢升高时，相应的分解代谢率也提高，高于合成代谢率低时的分解代谢率。因此，在我们的实验中可以看出，蛋白质质量主要是影响机体蛋白合成与分解代谢动态平衡的偏移方向，优质饲料蛋白促进蛋白质合成代谢速度和蛋白质转化率，而劣质蛋白质对幼年动物体蛋白的转化率作用较小。

综上所述，优质饲料蛋白质促进动物的生长，主要是由于提高了机体蛋白质合成代谢率，而不是降低分解代谢率。

参考文献

1. Association of Official Analytical Chemists. Official Method of Analysis, 13th. (Horhitz W ed.), 1980, Washington D.C.
2. Bancroft JD. Theory and practice of histological techniques. 2nd ed', 1984, Distributed by Churchill Livingston Edinburgh London Melbourne and New York
3. Sampson DA, et al Dietary protein quality, protein quantity and food intake: effects on lactation and on protein synthesis and tissue composition in mammary tissue and liver in rats. J Nutr 1986, 116 365
4. 郑国锠。细胞生物学。第一版，1980：202—218
5. Munro HN and Young VR. 3-methylhistidine as an index of rate of muscle protein breakdown. Am J Clin Nutr 1978: 31 1608
6. Bollard FJ and Tomas FM 3-methylhistidine as a measure of skeletal muscle protein breakdown in human subjects: the case for its contined use. Clin Sci 1983: 65 209
7. Perry BN. Protein turnover in skeletal muscle of piglets. Br J Nutr 1974: 31: 35
8. Millward DJ, et al. Skeletal muscle growth and protein turnover. Biochem J 1975: 150: 235

（收稿：1987.12.24，修回：1988.9.21）

Effects of Food Protein Quality on Protein Metabolism of Skeletal Muscle in Young Rats

Chen Dongsheng, et al (Department of Military Hygiene, Third Military Medical College)

The experimental rats were fed with 5 test diets of different protein quality. RNA content and 3-methylhistidine(3-MH) in urine were determined.

The results showed that the RNA content of the skeletl muscle cells was significantly different in rais fed with different diet. A linear correlation between RNA content and amino acid score of food protein was perceived. Food with the higher protein quality, the more 3-MH in urine was excreted. A good correlation between excretion of 3-MH and Net Portein Utilization(NPU), an index reflecting protein quality, existed too. These suggested that protein quality regulates the balance between anabolism and catabolism, meaning the turnover of skeletal muscle protein.

The mechanism of strengthening anabolism, not reducing catabolism, can explain that high protein quality could improve growth of animals.

Key words: Food analysis; Muscle proteins; 3-methylhistidine; RNA

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net