

牛腰肌中 μ -钙蛋白酶基因表达量和蛋白活性与嫩度的关系

孙康乐, 宋晓凤, 宁盼盼, 冉静娟, 侯俊杰, 冀 祥, 文风云, 宋 祯*

(河南科技大学动物科技学院, 河南 洛阳 471000)

摘 要:牛肉嫩度是影响牛肉品质的重要因素, μ -钙蛋白酶是影响牛肉嫩度的关键酶。本研究的目的是探究夏南母牛,夏南公牛,西门塔尔公牛肉中 μ -钙蛋白酶 mRNA 表达量和蛋白活性与嫩度的关系。本研究选取年龄为 48 月龄的夏南母牛 3 头,18 月龄的夏南公牛 3 头,15 月龄的西门塔尔公牛 3 头,以腰最长肌为研究对象。利用实时荧光定量 PCR 分析不同品种牛腰最长肌中 μ -钙蛋白酶 mRNA 表达量;采用酪蛋白酶谱法分析成熟 3 d 时不同样品 μ -钙蛋白酶活性的差异;通过剪切力测定不同品种牛腰最长肌肉质嫩度的差异。结果发现:3 个样品牛肉中 μ -钙蛋白酶基因 mRNA 表达量差异不显著($P>0.05$);夏南牛与西门塔尔牛肉中 μ -钙蛋白酶活性差异极显著($P<0.01$);夏南牛与西门塔尔牛剪切力差异极显著($P<0.01$)。结论:3 个样品腰最长肌中 μ -钙蛋白酶的 mRNA 表达量与牛肉嫩度无显著相关性,夏南母牛比夏南公牛嫩度好,夏南公牛比西门塔尔公牛嫩度好。

关键词:牛肉; μ -钙蛋白酶;酪蛋白酶谱法;荧光定量 PCR;嫩度

中图分类号:S823 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-9111(2023)06-0004-05

前言

培育良种肉牛是我国畜牧业发展的现实需求。我国肉牛育种起步较晚,品种开发利用率低,牛肉品质尤其是嫩度相关报道较少。夏南牛是我国培育的肉用品种,以法国夏洛莱牛为父本,我国地方南阳牛为母本杂交培育而成^[1]。因此,研究以期通过分析夏南牛和西门塔尔牛腰最长肌中 μ -钙蛋白酶基因表达量和蛋白活性来阐明我国育成品种夏南牛牛肉嫩度的高低。

嫩度是影响牛肉肉质的关键特征,为此让消费者有更大的购买欲望,并且愿意接受牛肉的溢价^[2]。牛肉成熟能显著提高肉的嫩度、整体接受度及风味,是肉类品质提升的重要手段。肉嫩度的提高和动物体内一系列酶的变化有关,多种内源性蛋白酶都参与其中,目前普遍认为钙蛋白酶的蛋白水解系统是影响动物屠宰后肌肉纤维降解的主要酶系统^[3]。其中, μ -钙蛋白酶水解是导致肉嫩化的主要原因。在成熟过程中,内源性蛋白酶通过对细胞骨架肌原纤维蛋白的降解,使肌肉嫩度和适口性显著改善^[4]。王建华等人研究发现宰后成熟过程中肌

肉 μ -钙蛋白酶在肉嫩化中起主要作用^[5]。嫩度是决定消费者膳食结构和可接受性的主要决定因素,研究发现 μ -钙蛋白酶和嫩度显著相关^[6-7]。其中 Smith 等人研究发现, μ -钙蛋白酶基因是一种位置候选基因,可能和牛肉的嫩度有关^[8]。Veiseth 研究发现钙蛋白酶表达量减少会导致肌肉蛋白水解率及宰后肉嫩度的下降,这表明钙蛋白酶水解作用是导致肉嫩化的主要因素^[9]。目前,基于荧光定量 PCR 技术建立基因表达量鉴别诊断方法成为各国研究热点^[10-11]。因此,本研究尝试利用荧光定量 PCR 技术检测夏南公母牛和西门塔尔公牛腰最长肌中 μ -钙蛋白酶 mRNA 表达量高低与嫩度的关系。

研究发现钙蛋白酶参与动物屠宰后蛋白的水解,其中, μ -钙蛋白酶在许多牛中被研究作为一个重要的嫩度标记,应用于分子标记辅助选择育种。众多研究表明, μ -钙蛋白酶是位于肌纤维 Z 盘肌质网膜上的蛋白水解酶,当它被 Ca^{2+} 激活后自身开始自溶,且能够协助其他蛋白发生水解。当肌原纤维被 μ -钙蛋白酶水解后,在 Z 盘处发生裂解使得肌原纤维的结构被破坏,出现肌原纤维小片化,从而改善肉的嫩度^[12-13]。因此,本研究通过酪蛋白酶电泳浅

收稿日期:2023-08-01 修回日期:2023-08-20

作者简介:孙康乐(1999—),女,硕士,主要从事牛肉肉质调控分析研究。

* 通讯作者:宋祯(1986—),女,讲师,博士,主要从事牛肉肉质调控分析研究。

析夏南公母牛和西门塔尔公牛腰最长肌中 μ -钙蛋白酶活性与嫩度的关系。

肉的嫩度一般用剪切力或华纳-布拉茨勒剪切力(Warner-Bratzler shear force, WBSF)表示,其值越小,肉的嫩度越高^[14-15]。它是衡量嫩度的一个指标,牛肉的剪切力数值与嫩度成反比,剪切力值越大,肉嫩度越差,口感越粗糙;反之,适口性越好。因此,本研究尝试通过荧光定量 PCR、酪蛋白酶谱法及嫩度测定探究夏南牛与西门塔尔公牛肉中 μ -钙蛋白酶与嫩度的关系,为日后夏南牛肉肉质的研究奠定基础。

1 材料和方法

1.1 设计引物

从 NCBI 上调取牛 μ -钙蛋白酶以及内参 β -actin 的全基因序列,登录号: μ -钙蛋白酶是 NM-174259.2, β -actin 是 NM-173979.3,使用 Primer5.0 软件进行引物的设计,引物序列如表 1:

表 1 μ -钙蛋白酶与 β -actin 引物序列

基因名称	引物序列(5'-3')	产物长度
μ -钙蛋白酶	F: CCCTTACCCTCAATGACACC	116
	R: ATCCACCCACTCACCAAACT	
β -actin	F: GGCATTACGAAACTACCTT	266
	R: TCCTGCTTGCTGATCCACAT	

1.2 样品的采集与预处理

本研究以牛的腰最长肌为研究对象,采 48 月龄夏南母牛,18 月龄夏南公牛和 15 月龄西门塔尔公牛各 3 头,其中夏南牛腰最长肌均由驻马店泌阳县畜牧局提供;西门塔尔公牛腰最长肌购自漯河区蒙原牧业,每个样品取样 2 kg,取样后,立即将新鲜肉样 200 g 左右置于液氮罐中,运送至实验室于 -80℃ 冰箱保存,用于后续 RNA 提取,其余样品在冰上运送至实验室,放入 4℃ 冰箱成熟,3 天后取 200 g 置于 -80℃ 冰箱,用于酪蛋白酶谱法,同时剩余样品用于剪切力的测定。

1.3 荧光定量 PCR

RNA 的提取:使用诺唯赞公司的 RNA isolater Total RNA Extraction Reagent R401-01 试剂进行提取 Total RNA,具体试验步骤参考说明书。然后用 NanoDrop2000 分光光度计检测每个样品的纯度和浓度。

cDNA 的合成:使用诺唯赞公司的 HiScript III All-in-one RT SuperMix Perfect for qPCR R333 试剂盒使提取的总 RNA 逆转录成 cDNA。具体的试验

步骤参考说明书进行。后用普通 PCR 仪(Bio-Rad 梯度 PCR 仪)进行逆转录,反应程序为:50℃ 15 min,85℃ 5 s。

使用 Servicebio 公司的 2 × Universal Blue SYBR Green qPCR Master Mix G3326 试剂对 cDNA 进行扩增。具体试验操作参考说明书进行。使用 BIO-RAD CFX PCR 仪进行 qPCR 测定。反应程序为:95℃ 预变性 30 s;95℃ 变性 15 s,60℃ 退火/延伸 30 s,40 个循环。

1.4 酪蛋白酶谱法

取 3 g 无脂肪样品切碎,加入 9 mL 样品萃取液(100 mmol Tris + 10 mM EDTA + 0.05% 巯基还原剂,pH8.3;样品重/g 与萃取液/mL 的比例是 1:3)。采用 14000 r/min,每次 15 s,共 3 次进行样品破碎。破碎后,8800 g,4℃ 离心 30 min,取全部上清,进行称重。样品上样量根据如下公式进行计算:

上样体积/ μ L = $\frac{\text{上清重量}}{\text{样品重量}} \times 6$

电泳在 4℃ 库进行,首先采用 80 V,预电泳 20 min,之后转为 100 V,电泳 10 h。电泳结束后进行 Ca^{2+} 孵育,孵育条件是:孵育液(20 μ mol CaCl_2 + 100 mmol Tris pH7.5 + 0.05% 巯基还原剂)洗脱 3 次,每次 20 min;之后未加巯基还原剂的孵育液室温摇床过夜孵育。孵育之后采用考马斯亮蓝 R250 进行染色,染色条件是室温,摇床染色 3 h(0.25% R250 comassie,5% 甲醇,2% 乙酸)。染色完成后进行洗脱,洗脱条件是:室温,摇床,每 20 min 换一次液(20% 甲醇,7% 乙酸),洗脱 2 h。采用凝胶成像仪拍照并用 Image J 软件对电泳条带进行分析。

1.5 剪切力测定

4℃ 冰箱中成熟 3 d 肉样切成厚度一致,大小均匀的肉块进行剪切力测定(约 250 g),每个样品取 3 块,将热电偶测温仪斜插入肉块中心,肉样装入自封袋放入 70℃ 的水浴锅中煮肉,直至测温仪温度达到 70℃,取出自封袋,放入流动的自来水中进行冲洗降温 30 min,之后将样品放入 4℃ 冰箱过夜,第二天取出肉块,沿着肌纤维方向将其切成直径为 1 cm × 1 cm × 2 cm 的长方体肉块,每个样品切若干个($n > 8$)。用肌肉嫩度仪(北京 Tenovo 公司 C-LM3B 型)测定牛肉的剪切力。

1.6 统计分析

采用 IBM SPSS Statistics 26 软件处理相关数据。采用单因素 LSD、沃勒-邓肯、图基 s-b(K) 检验分析腰最长肌 μ -钙蛋白酶基因相对表达量及蛋白活性与嫩度之间的关系。 $P < 0.05$ 为显著差异, $P < 0.01$ 为极显著差异, $P > 0.05$ 为不显著差异。采用 Image

J 和 IBM SPSS Statistics 26 软件处理酪蛋白酶谱电泳图进行分析 μ -钙蛋白酶活性的灰度值。

2 结果与分析

2.1 荧光定量 PCR

以 β -actin 为内参对荧光定量 PCR 的 CT 值分析,用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 方法计算不同样品中 μ -钙蛋白酶 mRNA 表达量,结果如表 2,其中夏南母牛 μ -钙蛋白酶的 mRNA 相对表达量为 1.021,夏南公牛 mRNA 相对表达量为 1.045,西门塔尔公牛 mRNA 相对表达量为 1.017。分析发现,夏南母牛,夏南公牛和西门塔尔公牛腰最长肌中 μ -钙蛋白酶的 mRNA 表达量无显著差异($P>0.05$)。

表 2 μ -钙蛋白酶基因 mRNA 表达量分析

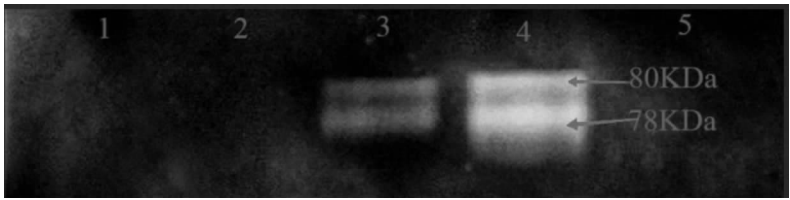
样品	基因相对表达量	标准差	P 值
夏南母牛	1.021	0.012	$P=0.859$
夏南公牛	1.045	0.071	
西门塔尔公	1.017	0.089	

注: $P=0.859$ 表示无显著差异。

2.2 酪蛋白酶谱法

通过酪蛋白酶谱电泳结果可以看出成熟 3 天时,夏南母牛腰最长肌中为检测到 μ -钙蛋白酶活性,夏南公牛腰最长肌中 μ -钙蛋白酶活性高于夏南母牛,西门塔尔公牛腰最长肌中 μ -钙蛋白酶活性高于夏南牛,理论上三者之间的嫩度为夏南母牛>夏南公牛>西门塔尔牛(图 1)。

通过 Image J 和 IBM SPSS Statistics 26 软件计算样品各蛋白条带的灰度值,结果显示完成 μ -钙蛋白酶在夏南母牛中为 0%,夏南公牛为 34.52%,西门塔尔公牛占 65.48%。降解后的 μ -钙蛋白酶(78 KDa)在夏南母牛中未检测出,夏南公牛占 34.65%,西门塔尔公牛占 65.35%。完成条带和降解的 μ -钙蛋白酶在夏南和西门塔尔牛腰最长肌中活性差异极显著($P<0.01$)。且三者灰度值比较发现夏南母牛为 0,夏南公牛为 53 541.133,西门塔尔公牛为 101 242.811,和电泳后肉眼观察结果一致,即西门塔尔公牛腰最长肌中 μ -钙蛋白酶活性最高(表 3)。



(注:1 和 5 为空白 2:夏南母牛 3:夏南公牛 4:西门塔尔公牛)

图 1 酪蛋白酶谱电泳图

表 3 酪蛋白酶谱电泳灰度值

样品	灰度值(80KDa)	灰度值(78KDa)	标准差	P 值
夏南母牛	0 ^c	0 ^c	0.00	$P<0.01$
夏南公牛	26 169.727 ^b (34.52%)	27 371.406 ^b (34.65%)	16.73	
西门塔尔公	49 631.627 ^a (65.48%)	51 611.184 ^a (65.35%)	162.83	

注:同列不同字母表示差异极显著($P<0.01$)。

2.3 剪切力

本研究中西门塔尔公牛的剪切力均值是 9.218,夏南母牛剪切力均值是 2.965,夏南公牛剪切力均值是 3.899(表 4),通过 SPSS 单因素 LSD、沃勒-邓肯、图基 s-b(K) 检验表明三者差异极显著($P<0.01$),且夏南母牛腰最长肌中剪切力值最低,西门塔尔公牛剪切力值最高,这与酪蛋白酶谱电泳结果一致,即 μ -钙蛋白酶在体外活性越高,剪切力值越大,

肉的嫩度越低。

表 4 不同品种牛腰最长肌剪切力均值

性别	剪切力均值	标准差	P 值
夏南母牛	2.965 ^c	0.497	$P<0.01$
夏南公牛	3.899 ^b	0.320	
西门塔尔公	9.218 ^a	0.330	

注:同列不同字母表示差异极显著($P<0.01$)。

3 讨 论

3.1 μ -钙蛋白酶 mRNA 表达量与嫩度之间的关系

Morgan 研究发现, μ -钙蛋白酶 mRNA 表达量与肌肉嫩度的关系呈正相关^[16]。Ilian 等研究了宰后3天的牛肉嫩度与 μ -钙蛋白酶 mRNA 表达量的关系, μ -钙蛋白酶的 mRNA 表达量增加与宰后肌肉嫩度呈正相关^[17]。 μ -钙蛋白酶在羊上也有研究,马丽娜等关于滩羊肌肉组织钙蛋白酶系统基因表达与嫩度关系的分析中,滩羊背最长肌 μ -钙蛋白酶基因相对表达量与剪切力值有显著相关性,相对表达量越高,剪切力值越低,嫩度也就越好^[18]。可见 μ -钙蛋白酶基因对提高肉质嫩度十分重要。Veiseth 等研究 μ -钙蛋白酶基因的遗传变异与肉嫩度的关系,发现钙蛋白酶系统的基因可辅助选择嫩度性状,且对肉的嫩化有促进作用^[9]。但是本研究结果证明夏南母牛、夏南公牛、西门塔尔公牛腰最长肌中 μ -钙蛋白酶基因的 mRNA 表达量差异不显著,但是蛋白活性和剪切力具有明显差异(表3,表4)出现这一结果的原因可能是因为不同品种的牛体内钙蛋白酶的基因发生了 SNP 位点突变,且随着生物技术的发展,越来越多的文献研究证明 μ -钙蛋白酶基因的表达量和肉嫩度关系甚微,但是其基因位点的突变与肉的嫩度密切相关^[19-20]。

3.2 μ -钙蛋白酶活性与嫩度之间的关系

μ -钙蛋白酶有助于牛死后早期的蛋白质水解,并有助于延长衰老过程中的嫩化^[21]。影响牛肉嫩度的因素众多,其中许多研究发现 μ -钙蛋白酶的水解和牛肉嫩度呈正相关^[22-23]。其中 Chang 与 Basson 等研究 μ -钙蛋白酶是钙依赖的半胱氨酸蛋白酶,参与肌纤维蛋白的分解和随后肉的嫩化^[24-25]。张金鑫等首次研究了 μ -钙蛋白酶基因与中国延边黄牛肉质嫩度有关^[26]。 μ -钙蛋白酶的自溶和蛋白水解相关;Neath 等发现水牛肉与婆罗门牛肉相比嫩度更高,可能是因为屠宰后早期水牛肌肉中钙蛋白酶活性较高水牛肉和婆罗门牛肉之间的钙蛋白酶抑制蛋白活性没有显著差异^[27]。Morgan 首次发现动物性别不同,相同条件钙蛋白酶活性不同^[16]。本研究与前人研究结果一致,通过酪蛋白酶谱法证明西门塔尔公牛体外 μ -钙蛋白酶的活性比夏南公牛高,夏南公牛 μ -钙蛋白酶体外活性高于夏南母牛,且三种牛肉的嫩度是夏南母牛 > 夏南公牛 > 西门塔尔公牛(表3)。因此,宰后牛肉中 μ -钙蛋白酶活性和肉的嫩度呈正相关。

3.3 剪切力与嫩度的关系

嫩度是消费者最关注的指标之一,它反映了肉

入口后的适口性,其影响因素甚多,如种类、品种、宰前应激等等,剪切力是衡量牛肉嫩度的重要指标,剪切力越高嫩度越差,反之剪切力越低嫩度越好,一般用剪切力来反映嫩度的好坏。嫩度是评价肉质的重要指标^[28,29]。岳胜楠等研究西门塔尔牛与夏南牛的剪切力检测,结果表明西门塔尔公牛的剪切力极显著高于夏南牛($P < 0.01$),夏南牛肉质细嫩,肉品质优于西门塔尔公牛^[30]。这与本研究结果一致(表4)。本研究中也证明夏南母牛嫩度高于夏南公牛。本研究结果揭示我国育成品种夏南牛肉的嫩度较西门塔尔牛肉嫩度高。

参考文献:

- [1] 茹宝瑞,姜成合,祁兴磊,等. 南阳牛导入夏洛来培育肉用新品系项目进展[J]. 中国牛业科学,2006,(02):40-43.
- [2] DANG DS,STAFFORD CD,TAYLOR MJ,et al. Ultrasonication of beef improves calpain-1 autolysis and caspase-3 activity by elevating cytosolic calcium and inducing mitochondrial dysfunction[J]. Meat Science,2022,183:108-114.
- [3] WARNER RD,WHEELER TL,HA M,et al. Meat tenderness: advances in biology, biochemistry, molecular mechanisms and new technologies[J]. Meat Science,2021,185(11):e108657.
- [4] KIM YHB,MA DY,SETYABRATA D,et al. Understanding post-mortem biochemical processes and post-harvest aging factors to develop novel smart-aging strategies[J]. Meat Science,2018,144:74-90.
- [5] 王建华. 牦牛钙蛋白酶抑制蛋白(CAST)基因多态性及其与肉质性状关系的研究[D]. 兰州:甘肃农业大学,2010.
- [6] LIU JJ,ELLIES-OURY MP,CHRIKI S,et al. Contributions of tenderness, juiciness and flavor liking to overall liking of beef in Europe[J]. Meat Science, 2020, 168: 108190.
- [7] LUO XZ,XIONG L,GAO X,et al. Determination of beef tenderness based on airflow pressure combined with structural light three-dimensional (3D) vision technology[J]. Meat Science, 2023, 202:109206.
- [8] SMITH TP,CASAS E,REXROAD CE,et al. Bovine CAPN1 maps to a region of BTA29 containing a quantitative trait locus for meat tenderness[J]. Journal of Animal Science,2000,78(10):2589-2594.
- [9] VEISETH-KENT E,HOLLUNG K,OFSTAD R,et al. Relationship between muscle microstructure, the calpain system, and shear force in bovine longissimus dorsi muscle[J]. Journal of Animal Science,2010,88(10):3445-3451.
- [10] ALEXANDER S,OLGA, B,SVETLANA, K,et al. A real-time PCR screening assay for the universal detection of lumpy skin disease virus DNA[J]. BMC research notes,2019,12(1):371.
- [11] WANG HY,KONG YF,MEI L,et al. Multiplex Real-Time PCR Method for Simultaneous Detection and Differentiation of Goat pox Virus, Sheeppox Virus, and Lumpy Skin Disease Virus[J]. Journal of Aoac International,2021,104(5):1389-1393.
- [12] TAKAHASHI K,KIM OH,YANO K. Calcium-induced weakening of Z-disks in postmortem skeletal muscle[J]. Journal of Bi-

- ochemistry, 1987, 101(3):767-773.
- [13] KANEMATSU Y, NARITA A, ODA T, et al. Structures and mechanisms of actin ATP hydrolysis[J]. *Proc Natl Acad Sci*, 2022, 119(43):e2122641119.
- [14] SMITH GC, TATUM JD, BELK KE. International perspective characterisation of United States Department of Agriculture and Meat Standards Australia systems for assessing beef quality[J]. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 2008, 48(11):1465-1480.
- [15] MAHESH N, ANNA CC, GREGG R, et al. Muscle-specific effect of aging on beef tenderness[J]. *Lwt-Food Science and Technology*, 2018, 100:250-252.
- [16] MORGAN JB, WHEELER TL, KOOHARAIE M, et al. Meat tenderness and the calpain proteolytic system in longissimus muscle of young bulls and steers[J]. *Journal of Animal Science*, 1993, 71(6):1471-1476.
- [17] ILIAN MA, MORTON JD, KENT MP, et al. Intermuscular variation in tenderness: Association Intermuscular variation in tenderness: Association with the ubiquitous and muscle-specific calpains[J]. *Journal of Animal Science*, 2001, 79(1):122-132.
- [18] 马丽, 王锦, 赵正伟, 等. 滩羊肌肉组织钙蛋白酶系统基因表达及其与嫩度的相关分析[J]. *上海畜牧兽医通讯*, 2020, (03):2-4.
- [19] KOWALCZYK M, KALINIAK DA, PRASOW M, et al. Meat quality - Genetic background and methods of its analysis[J]. *Czech Journal of Food Sciences*, 2022, 40(1):15-25.
- [20] LEE HJ, JIN S, KIM HJ, et al. Validation study of SNPs in CAPN1-CAST genes on the tenderness of muscles (longissimus thoracis and semimembranosus) in Hanwoo (Korean Cattle)[J]. *Animals (Basel)*, 2019, 9(9):691.
- [21] DRANSFIELD E. Modelling postmortem tenderization. IV: Role of calpains and calpastatin in conditioning[J]. *Meat Science*, 1993, 34(2):217-234.
- [22] AROEIRA CN, TORRES RA, FONTES PR, et al. Freezing, thawing and aging effects on beef tenderness from *Bos indicus* and *Bos taurus* cattle[J]. *Meat Science*, 2016, 116:118-125.
- [23] GEESINK GH, KUCHAY S, CHISHTI AH, et al. Micro-calpain is essential for postmortem proteolysis of muscle proteins[J]. *Journal of Animal Science*, 2006, 84(10):2834-2840.
- [24] CHANG YS. Effects of stepwise chilling with calcium incubation on proteolysis and tenderization in postmortem goose muscle[J]. *Poult Science*, 2023, 102(8):102 811.
- [25] BASSON A, STRYDOM PE, MARLE-K? STER VE, et al. Sustained Effects of Muscle Calpain System Genotypes on Tenderness Phenotypes of South African Beef Bulls during Ageing up to 20 Days[J]. *Animals (Basel)*, 2022, 12(6):686.
- [26] JIN X, ZHANG LC, LI ZZ, et al. Association of Polymorphisms in the Calpain I Gene with Meat Quality Traits in Yanbian Yellow Cattle of China [J]. *Asian-Australasian Journal Animal Sciences*, 2011, 24(1):9-16.
- [27] NEATH KE, BARRIO AN, LAPITAN RM, et al. Protease activity higher in postmortem water buffalo meat than Brahman beef[J]. *Meat Science*, 2007, 7(3):389-396.
- [28] 刘奕轩, 熊琳, 梁春年, 等. 冷季不同饲养模式对牦牛肉品质的影响[J]. *畜牧兽医学报*, 2021, 52(06):1640-1651.
- [29] 余磊, 邢珊珊, 李静, 等. 饲养月龄对‘夏南’牛肉品质、肌肉脂肪及长链脂肪酸的影响[J]. *食品科学*, 2023, 44(11):9-16.
- [30] 岳胜楠. 西门塔尔杂交牛和夏南牛的肉品质差异分析[D]. 郑州:河南农业大学, 2022, 02.

Relationship Between U-calpain Gene Expression and Protein Activity with Tenderness in Longissimus Lumborum Muscle of Cattle

SUN Kang-le, SONG Xiao-feng, NING Pan-pan, RAN Jing-juan,
HOU Jun-jie, JI Xiang, WEN Feng-yun, SONG Zhen *

(College of Animal Science and Technology, Henan University of Science and Technology, Henan province Luoyang City 471000)

Abstract: Beef tenderness is an important factor of beef quality, and μ -calpain is the key enzyme which could affect the beef tenderness. The objective of this study was to investigate the relationship between μ -calpain mRNA expression and protein activity with tenderness in Xianan cattle and Simmental bull. The longissimus lumborum muscles were researched in this study and three Xianan cows aged 48 months, three Xianan bulls aged 18 months and three Simmental bulls aged 15 months were selected. Real-time fluorescence quantitative PCR was used to analyze the μ -calpain mRNA expression in longissimus lumborum muscles of different breeds. When aging time arrived 3d, the difference of μ -calpain activity in different samples was analyzed by casein zymography. The difference of tenderness among different breeds in longissimus lumborum muscles was measured by shear force. Results: These findings suggested that there was no significant difference in the mRNA expression of μ -calpain gene among the three cattle ($P > 0.05$). There was a significant difference in μ -calpain activity between Xianan cattle and Simmental cattle ($P < 0.01$). The difference of shear force between Xianan cattle and Simmental cattle was significant ($P < 0.01$). The conclusion was that there was no significant associated between the μ -calpain mRNA expression and beef tenderness in longissimus lumborum muscle of the different samples. The tenderness of Xianan cows was better than Xianan bulls, and the tenderness of Xianan bulls was better than Simmental bulls.

Key words: beef; μ -calpain; casein zymography; fluorogenic quantitative PCR; tenderness