

# 三种母奶水牛血清碱性磷酸酶(ALP)的研究

栾桂龙 韦莉莉 蒋艳明

(广西农业大学实验中心, 530005)

**摘要** 用对一硝基苯基磷酸二钠法、聚丙烯酰胺凝胶圆盘电泳法, 对三种母奶水牛—摩拉(Murra)、尼里(Nili-Ravi)及三品系杂交[Ni♂×(Mu♂×Nanning♀)]水牛血清ALP总活力、同工酶及其与产奶量的关系进行了测定和分析研究。结果表明: ALP总活力为, 三品杂(0.0636 $\mu$ mol/min·ml) > 摩拉(0.0634 $\mu$ mol/min·ml) > 尼里(0.0430 $\mu$ mol/min·ml); 各品种内高、低产奶量比较为, 高产 > 低产。其同工酶的特点是, 共有三种同工酶, 其中尼里为ALP<sub>2</sub> >> ALP<sub>1</sub> > ALP<sub>3</sub>、三品杂和摩拉为ALP<sub>2</sub> >> ALP<sub>3</sub> > ALP<sub>1</sub>, 但在尼里也出现了ALP<sub>3</sub> > ALP<sub>1</sub>、在三品杂和摩拉也出现了ALP<sub>1</sub> > ALP<sub>3</sub>的情况; 在各品种内高、低产奶量比较是, ALP<sub>2</sub>为高产 > 低产、ALP<sub>1</sub>和ALP<sub>3</sub>为低产 > 高产。并直接证实了两性载体电解质为水牛血清ALP的强烈抑制剂。

**关键词** 水牛, 血清, 碱性磷酸酶

1988年我们已经对水牛血清碱性磷酸酶(Alkaline phosphatase, 简称ALP或AKP, EC.3.1.3.1)进行过初步的研究<sup>[1]</sup>, 在此基础上, 本文的测定方法和手段更先进, 定量程度高, 特别是分析了ALP与产奶量的关系, 对生产有益。并对两性载体电解质抑制ALP的作用进行了直接测定。

## 1 材料和方法

试验水牛由中国农业科学院水牛研究所提供, 均系产犊1胎及1胎以上的健康母奶水牛。平均产奶量(kg/d)的计算为总产奶量(kg)除以总产奶天数(d)。在44头摩拉、41头尼里和82头三品系杂交母奶水牛中, 各随机挑选20头, 其中高、低产奶量各10头, 总数为60头。颈静脉采血, 离心分离血清(3000r/min, 10~15min), 置于4℃冰箱中备用。

ALP总活力的测定按<sup>[2]</sup>操作。使用国产上海第三分析仪器厂721型分光光度计测定光密度值, 保温时间为5min。

ALP同工酶的分离亦按文献<sup>[2]</sup>进行, 电泳后的胶条经染色固定后, 用日本岛津CS-930双波长薄层色谱扫描仪(波长400nm)扫描, 求出各酶的相对百分含量, 由迁移速度的快慢分别定为ALP<sub>1</sub>、ALP<sub>2</sub>及ALP<sub>3</sub>。

实验重复4次。实验时间是1993年6~7月、1994年6~7月。

\* 本文承蒙齐顺章、周顺伍教授审阅和热情指导, 并得到欧阳柱、蒋如明、黄秀英、胡曦璇、李政等老师的帮助, 特表谢意。

\*\* 收稿日期 1995-04-10。

## 2 结果与分析

**2.1 3个品种母奶水牛血清 ALP 总活力及正常值** 从表1可知, 各种母奶水牛血清 ALP 总活力的顺序为, 三品杂 (0.0636 $\mu\text{mol}/\text{min}\cdot\text{ml}$ ) > 摩拉 (0.0634) > 尼里 (0.0430); 产奶量的顺序为三品杂 (7.24 $\text{kg}/\text{d}$ ) > 尼里 (6.92) > 摩拉 (6.48); 前一结果与文献<sup>[1]</sup>的结果, 三品杂 (6.01单位%, 改良布氏法) > 摩拉 (5.18) > 尼里 (4.67), 不但完全一致, 同时表明 ALP 总活力与产奶量均具杂种优势。

在各个品种内, 血清 ALP 总活力是高产奶量组 > 低产奶量组, 这与乳牛血清 ALP 总活力与产奶量呈负相关的结果相异, 可能反映了黄牛与水牛的差异。这可为水牛种内选育优良产奶个体提供可能性。

3个品种母奶水牛品种间及各品种内高、低产奶量组之间血清 ALP 总活力虽有不同程度的差异, 但差异均不显著 ( $P > 0.05$ )。这可能表明产奶量的高、低是多种因素影响的结果。

**2.2 3个品种母水牛血清 ALP 同工酶谱型及正常值** 将电泳后的凝胶条染色固定后进行光密度扫描, 结果如图1。各品种母奶水牛血清 ALP 同工酶活力的相对百分含量的正常值见表2及图2。从图1、图2、表2可知, 三种母奶水牛血清 ALP 同工酶酶谱的基本特点是: ALP 有三种同工酶, 这与有三条酶谱带的报道<sup>[1]</sup>结果一致; ALP<sub>2</sub>%占绝对优势(67%以上), 而 ALP<sub>1</sub>%和 ALP<sub>3</sub>%所占比例较少, 在尼里为 ALP<sub>2</sub> >> ALP<sub>1</sub> > ALP<sub>3</sub>, 而在摩拉和三品杂则为 ALP<sub>2</sub> >> ALP<sub>3</sub> > ALP<sub>1</sub>。在 ALP<sub>1</sub>, 尼里 > 三品杂 > 摩拉, 差异不显著 ( $P > 0.05$ ); 在各品种内则是低产奶量组 > 高产奶量组, 即与产奶量呈负相关趋势, 差异不显著 ( $P > 0.05$ ); 后一结果可为培育优良个体提供可能性。在 ALP<sub>2</sub>, 摩拉 > 尼里 > 三品杂, 与产奶量呈负相关, 且摩拉、三品杂之间差异高度显著 ( $P < 0.01$ ), 尼里、三品杂之间差异

表1 不同品种母奶水牛血清 ALP 总活力正常值( $\mu\text{mol}/\text{min}\cdot\text{ml}$ )

Table 1 The normal values of the total activity of serum ALP in different breeds of female milking buffalo cows

产奶量 Milk yield kg/d	尼里 Ni			三品杂 Tc			摩拉 Mu		
	高High	低Low	总体 General	高High	低Low	总体 General	高High	低Low	总体 General
	7.98	5.50	6.92	8.18	5.65	7.24	7.37	5.23	6.48
$\bar{X}$	0.0468	0.0394	0.0430	0.0660	0.0612	0.0636	0.0690	0.0577	0.0634
S	0.0251	0.0142	0.0198	0.0545	0.0342	0.0430	0.0284	0.0204	0.0240
C.V	53.60	36.04	46.05	82.58	55.88	67.61	41.59	35.36	37.85
P	>0.05			>0.05			>0.05		
差异 Difference	不显著 Not obvious			不显著 Not obvious			不显著 Not obvious		

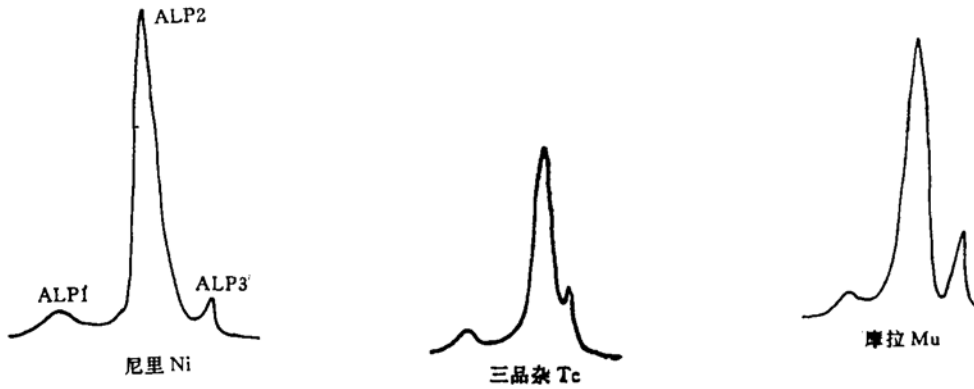


图 1 水牛血清 ALP 同工酶扫描曲线。

Fig. 1 The scanning curves of serum ALP isoenzyme of buffaloes.

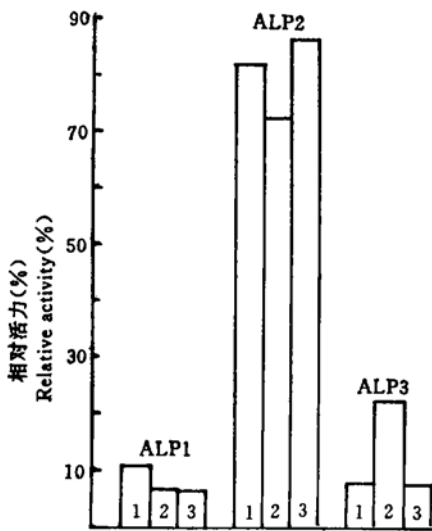


图 2 三种水牛血清 ALP 同工酶比较图。

Fig. 2 The comparison of the serum ALP isoenzymes in three breeds of buffaloes.

1. 尼里牛 Ni; 2. 三品杂交牛 Tc; 3. 摩拉牛 Mu

显著 ( $P < 0.05$ ), 而摩拉、尼里之间差异不显著 ( $P > 0.05$ ), 这一结果与泌乳母牛血清 ALP 总活力与产奶量呈负相关的结果相似, 但后者是奶黄牛且是总活力; 各品种内则与产奶量呈正相关趋势, 但差异不显著 ( $P > 0.05$ ); 此二结果亦可为育种提供可能性。在 ALP<sub>2</sub>, 则为三品杂 > 尼里 > 摩拉, 与产奶量呈正相关, 且三品杂、摩拉之间和三品杂、尼里之间差异均高度显著 ( $P < 0.01$ ), 而尼里、摩拉之间差异则不显著 ( $p > 0.05$ ), 表现出强烈的杂种优势; 在各品种内则与产奶量呈负相关趋势, 其差异亦不显著 ( $P > 0.05$ ); 此二结果亦可为培育良种提供可能性。

**2.3 两性载体电解质对 ALP 的抑制作用** 在酶总活力测定液中加入 2% 两性载体电解质 (Ampholyte Carrier pH3.5~10), 即在 3ml 的反应液中加入 60μl 两性载体电解质, 结果酶活力受到强烈抑制, 其顺序为尼里 (由  $0.0925 \mu\text{mol}/\text{min}\cdot\text{ml}$  降至  $0.0032$ , 为原活力的 3.46%) >

表2 三种母奶水牛血清 ALP 同工酶正常值  
Table 2 The normal values of serum ALP isoenzymes in three breeds of female milking buffalo cows

品种 Breed	项目 Item	数量(头) Number (产奶量;kg/d) (Milk yield)	ALP <sub>1</sub> %	ALP <sub>2</sub> %	ALP <sub>3</sub> %
尼里 Ni	$\bar{X} \pm S$	总 General(20) (6.92)	10.70±4.61 43.04	81.22±7.28 8.96	8.12±4.18 51.49
		高产 High-yield(10) (7.98)	9.78±3.98 40.74	83.42±5.39 6.46	6.82±3.93 57.57
	C. V	低产 Low-yield(10) (5.50)	11.62±5.45 46.91	79.02±8.83 11.17	9.42±4.44 47.11
三品杂Tc	$\bar{X} \pm S$	总 General(20) (7.24)	6.68±2.21 33.05	71.57±11.91 16.64	21.69±12.48 57.54
		高产 High-yield(10) (8.18)	6.34±2.10 33.09	76.12±15.16 19.92	17.48±15.65 89.53
	C. V	低产 Low-yield(10) (5.65)	7.02±2.51 35.68	67.02±6.11 9.12	25.90±7.82 30.20
摩拉 Mu	$\bar{X} \pm S$	总 General(20) (6.48)	6.67±5.43 81.39	85.80±6.52 7.60	7.45±5.55 74.54
		高产 High-yield(10) (7.37)	6.40±2.39 37.28	87.96±6.91 7.86	5.58±6.45 115.57
	C. V	低产 Low-yield(10) (5.23)	6.94±7.78 112.03	83.64±6.02 7.20	9.32±4.37 46.86

摩拉(由0.148降至0.0093,为原活力的6.28%)>三品杂(由0.0258降至0.0051,为原活力的19.77%),即活力抑制了80%以上。此抑制现象已有报道<sup>[1]</sup>,而这次是直接抑制实验。我们在水牛奶和猪血清中观察到该酶类似的抑制现象,这说明此抑制剂对ALP的抑制作用具有一定范围的普遍性。

### 3 小结

3.1 三种母奶水牛血清ALP总活力为三品杂(0.0636 $\mu$ mol/min·ml)>摩拉(0.0634)>尼里(0.0430),而其产奶量为三品杂(7.24)>尼里(6.92)>摩拉(6.48),表明ALP总活力与产奶量均具杂种优势。

3.2 ALP同工酶的特点:尼里为ALP<sub>2</sub>>>ALP<sub>1</sub>>ALP<sub>3</sub>,三品杂和摩拉为ALP<sub>2</sub>>>ALP<sub>3</sub>>ALP<sub>1</sub>,但在尼里也出现了ALP<sub>3</sub>>ALP<sub>1</sub>、在三品杂和摩拉也出现了ALP<sub>1</sub>>ALP<sub>3</sub>的情况;在各品种内高、低产奶量比较是,ALP<sub>2</sub>为高产奶量组>低产奶量组、ALP<sub>1</sub>和ALP<sub>3</sub>为低产奶量组>高产奶量组。

3.3 直接证实了两性载体电解质为水牛血清ALP的强烈抑制剂。

## 参 考 文 献

- [1] 栾桂龙等. 四种母水牛血清碱性磷酸酶的研究. 广西畜牧兽医, 1988, 4 (总第13期):18~20.
- [2] 北京农业大学主编. 动物生物化学实验指导. 农业出版社, 1986:62~63, 97~100.
- [3] 齐顺章等. 鸡血清碱性磷酸酶同工酶谱的分析及其组织来源的鉴定. 畜牧兽医学报, 1980, 11(3): 187~192.
- [4] 何谓霞等. 健康乳牛和骨病乳牛血清中碱性磷酸酶酶谱的分析. 中国兽医杂志, 1982, 8(4):7~7.
- [5] 殷国荣等. 聚丙烯酰胺凝胶圆盘电泳分离奶牛血清 ALP 同工酶及鉴定组织来源. 畜牧兽医学报, 1993, 24(2):125~129.
- [6] 殷国荣等. 缺磷症和肝功能障碍奶牛血清 ALP 同工酶的诊断价值. 畜牧兽医学报, 1993, 24(4): 359~365.
- [7] 胡能书, 万贤国编. 同工酶技术及其应用. 湖南科学技术出版社, 1985:126~130.

STUDY ON THE SERUM ALP IN BUFFALO  
COWS OF DIFFERENT BREEDS

Luan Guilong, Wei Lili, Jiang Yanming

(Research Centre of Guangxi Agricultural University, Nanning 530005)

## Abstract

The total activity of serum alkaline phosphatase (ALP) and its isoenzymes, the relation of the total activity and ALP isoenzymes to the milk output in the buffalo cows of Murra, Nili Ravi and hybrid [Ni ♂ × (Mu ♂ × Nanning ♀) ♀] were studied with the methods of p-nitrophenylphosphatic disodium salt and polyacrylamide disc gel electrophoresis. Results showed that the total activity of serum ALP were 0.0636 μmol/min. ml in hybrid animals, 0.0634 μmol/min. ml in Murra and 0.0430 μmol/min. ml in Nili-Ravi. Within a breed ALP was higher in the animals with higher milk output than those with lower milk output. Three isoenzymes of ALP were proved in the study. Their common situation in serum were  $ALP_2 \gg ALP_1 > ALP_3$  in Nili-Ravi and  $ALP_2 \gg ALP_3 > ALP_1$  in Murra and hybrid animals. In a few cases there were  $ALP_3 > ALP_1$  in Nili-Ravi and  $ALP_1 > ALP_3$  in Murra and hybrid animals. Within a breed  $ALP_2$  was higher in animals with greater milk output than those with lower milk output and this was reversed in  $ALP_1$  and  $ALP_3$ . This study reveals that ampholyte carrier is a strong inhibitor to serum ALP in buffalo cow.

**Key words** Buffalo cows, Serum, ALP, Isoenzyme, Inhibitor