

断奶仔猪小肠黏膜脂肪酸结合蛋白和二肽转运载体 1 mRNA 表达发育性变化及谷氨酰胺对其的影响

周琳 曹广添 张帅 杨彩梅* 陈安国 洪奇华

(浙江大学动物科学学院, 杭州 310058)

摘要: 本试验旨在研究断奶仔猪小肠黏膜脂肪酸结合蛋白(I-FABP)和二肽转运载体 1(PEPT1)mRNA 表达的发育性变化及谷氨酰胺对其的影响。以 69 头(21±3)日龄断奶杜×长×大仔猪为试验动物,断奶当天选取 3 头猪进行屠宰,剩余 66 头随机分为 2 组,每组 3 个重复,每个重复 11 头。对照组饲喂基础饲料,试验组饲喂基础饲料+1% 谷氨酰胺。断奶后第 3、5、7、14 天试验组和对照组分别选取 3 头猪进行屠宰(共计 27 头),取十二指肠、空肠和回肠黏膜组织样品,通过实时定量 PCR 法测定 I-FABP 和 PEPT1 mRNA 的表达量。结果表明:1) I-FABP 和 PEPT1 mRNA 的表达量各肠段间无显著差异($P>0.05$);2) I-FABP 和 PEPT1 mRNA 在十二指肠、空肠和回肠的表达量均在断奶后急剧下降,断奶第 3 天的表达量最低,显著低于断奶当天($P<0.05$),而后逐渐升高,第 14 天达到峰值;3) 试验组 I-FABP 和 PEPT1 mRNA 表达量与对照组无显著差异($P>0.05$),但试验组表现出促使十二指肠、空肠、回肠黏膜的 I-FABP 和十二指肠 PEPT1 mRNA 表达提前恢复至断奶前水平的趋势。结果提示,断奶仔猪 I-FABP 和 PEPT1 mRNA 表达量随时间而变化,谷氨酰胺对断奶后 I-FABP 和 PEPT1 mRNA 表达量的恢复有一定的促进作用。

关键词: 断奶仔猪;小肠黏膜;吸收;小肠脂肪酸结合蛋白;二肽转运蛋白 1;谷氨酰胺

中图分类号: S828

文献标识码: A

文章编号: 1006-267X(2012)04-0704-08

小肠脂肪酸结合蛋白(intestinal fatty acid binding protein, I-FABP)在哺乳动物小肠脂肪酸的转运中起着关键作用,它特异性地表达于小肠近端上皮吸收细胞。Zimmerman 等^[1]研究发现, I-FABP 与长链脂肪酸的结合力高于肝脏脂肪酸结合蛋白,高亲和力的 I-FABP 提高了脂肪酸的水溶性,有利于其吸收和运输。研究发现将 I-FABP cDNA 持续转染 Caco-2 细胞,可减少脂类输出、载脂蛋白合成及乳糜微粒的分泌,证实 I-FABP 具有促进脂类吸收和转运的功能^[2]。此外, I-FABP 与脂肪代谢及相关酶类的活化有关^[3]。人、猕猴和大鼠的 I-FABP 均分布于小肠^[4-5],其表达具有高度的组织特异性,且不同的物种具有较高的同源

性。虽然 I-FABP 对动物的脂肪酸吸收和调控具有重要作用,但目前对于猪的 I-FABP mRNA 表达方面的研究较少。

蛋白质在体内主要是以二肽形式被吸收^[6],在肠道中二肽的转运和摄取过程依赖肠上皮细胞刷状缘的二肽转运载体 1(dipeptide transporter 1, PEPT1)。PEPT1 是一种氢离子(H^+)依赖的、低亲和力/高容量的寡肽转运体,主要表达在小肠上皮细胞刷状缘膜上,在近端肾小管上皮细胞、胆管上皮细胞、免疫细胞亦有表达^[7],一些类似于肽的药物如 β -内酰胺类抗生素也主要是通过二肽转运载体的转运而吸收。因此,肠上皮细胞膜的众多载体中,二肽转运载体备受瞩目。

收稿日期:2011-10-17

基金项目:国家自然科学基金(30700578)

作者简介:周琳(1988—),女,四川广元人,硕士研究生,研究方向为动物营养与饲料科学。E-mail: yucengkiki@163.com

* 通讯作者:杨彩梅,副教授,硕士生导师, E-mail: yangcm@zju.edu.cn

谷氨酰胺 (glutamine, Gln) 是母猪乳中含量最丰富的游离氨基酸,在维持早期断奶仔猪肠道结构和功能方面起着重要作用^[8],并对提高断奶仔猪养分消化和吸收能力有一定作用。研究表明,无论何种形式的添加,肠道供给或静脉供给,外源性谷氨酰胺均可以加速动物肠道对谷氨酰胺和其他氨基酸的吸收^[9]。小肠移植病人给予谷氨酰胺补充后,会增加小肠对蛋白质和葡萄糖的吸收。刘涛等^[10]研究表明在断奶仔猪饲料中添加谷氨酰胺和葡萄糖后,小肠吸收功能得到了明显的改善。虽然研究表明断奶仔猪饲料中添加谷氨酰胺可提高肠道的吸收能力,但谷氨酰胺提高吸收功能的机理目前还不是十分清楚,由于吸收转运载体在营养物质吸收过程中起着重要作用,因此推测谷氨酰胺可能是通过提高吸收转运载体的基因表达而提高吸收功能。本试验旨在研究仔猪断奶后小肠黏膜 I-FABP 和 PEPT1 mRNA 表达的发育性变化及谷氨酰胺对其 mRNA 表达的影响,为进一步研究 I-FABP 和 PEPT1 的功能和谷氨酰胺的作用机理提供一定的理论依据。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

谷氨酰胺:纯度 $\geq 99.9\%$,购自浙江省东阳化学制药厂。

1.2 试验设计及屠宰取样

选取(21 \pm 3)日龄断奶的杜 \times 长 \times 大仔猪 69 头,于断奶当天屠宰 3 头,剩余 66 头按饲养试验要求随机分为 2 组,每组 3 个重复,每个重复 11 头仔猪。对照组饲喂基础饲料,试验组饲喂基础饲料+1% 谷氨酰胺。试验基础饲料按照 NRC (1998)标准配制成粉状全价料,试验组以 1% 谷氨酰胺替代等量的玉米,基础饲料组成及营养水平见表 1。

断奶当天随机选取 3 头猪屠宰,并于断奶后第 3、5、7 和 14 天从对照组和试验组分别选取 3 头健康仔猪进行屠宰(即屠宰 5 次,共计 27 头)。屠宰前禁食 2 h,屠宰后迅速剖开腹腔,并立即结扎贲门瓣、幽门瓣、直肠远段,将消化道取出并小心剥离开,在十二指肠近端 5 cm 处、空肠近端 1/4 处、回肠中段分别取 10~15 cm 的肠管剪开并用少量预冷生理盐水冲洗,再用载玻片刮取肠黏膜放入 1.5 mL 离心管中,-80 $^{\circ}$ C 保存。

1.3 总 RNA 的提取及反转录

总 RNA 抽提试剂 Trizol 购自美国 Invitrogen 公司;总 RNA 利用超微量分光光度计检测 260 和 280 nm 下的吸光度;使用反转录试剂盒 (RT reagents, TaKaRa 公司,日本)进行反转录。

表 1 基础饲料组成及营养水平(风干基础)

Table 1 Composition and nutrient levels of the basal diet (air-dry basis) %

项目 Items	含量 Content
原料 Ingredients	
小麦 Wheat	15.00
玉米 Corn	42.57
豆粕 Soybean meal	23.00
膨化大豆 Extruded soybean	8.00
豆油 Soybean oil	1.30
乳清粉 Whey power	3.00
鱼粉 Fish meal	3.00
赖氨酸盐酸盐 Lys·HCl	0.35
DL-蛋氨酸 DL-Met	0.08
食盐 NaCl	0.30
石粉 Limestone	1.30
磷酸氢钙 CaHPO ₄	1.10
预混料 Premix ¹⁾	1.00
合计 Total	100.00
营养水平 Nutrient levels ²⁾	
粗蛋白质 CP	21.38
消化能 DE/(MJ/kg)	14.19
钙 Ca	0.99
总磷 TP	0.65
有效磷 AP	0.46
钠 Na	0.25
蛋氨酸+胱氨酸 Met+Cys	0.75
赖氨酸 Lys	1.35
苏氨酸 Thr	0.82

¹⁾ 预混料为每千克饲料提供 The premix provides the following per kilogram of diet: Cu 200 mg, Mn 50 mg, Zn 140 mg, I 0.60 mg, Se 0.30 mg, Fe 140 mg, VD₃ 400 IU, VE 20 IU, VK₃ 0.50 mg, VB₁ 1.50 mg, VB₂ 3.60 mg, 泛酸 pantothenic acid 10.0 mg, 吡哆醇 pyridoxine 3.00 mg, 烟酸 niacin 27.00 mg, VB₁₂ 0.009 mg, 生物素 biotin 0.15 mg, 叶酸 folic acid 0.55 mg。

²⁾ 营养水平为计算均值。Nutrient levels are calculated values.

1.4 引物设计

实时定量 PCR (real-time PCR, RT-PCR) 引物设计采用 Primer 5.0 软件,由上海英骏生物技术有限公司合成,引物序列及参数见表 2。

表 2 实时定量 PCR 特异性引物序列及参数

Table 2 Sequences and parameters of specific primers for real-time PCR

项目 Items	登录号 Accession No.	引物序列 Primer sequences (5'—3')	位置 Localization	产物大小 Product size/bp
小肠脂肪酸结合蛋白 I-FABP	NM_001031780	上游: AACTACAGCCTCGCAGACGGAAC 下游: CCTCTTGGCTTCTACTCCTTCA	208 ~ 381	174
二肽转运蛋白 1 PEPT1	EU400159	上游: GGTTTAGGCATCGGAGTAAGAAGT 下游: GGTCAAACAAAGCCCGAAGCAT	740 ~ 895	156
18S rRNA	AY265350	上游: TGCTGCCTTCCTTGGATGTG 下游: CGGCGGCTTTGGTGA CTCTA	1 499 ~ 1 697	199

1.5 反应体系及条件

以 18S rRNA 管家基因作为内标,对 I-FABP 和 PEPT1 进行相对定量分析。RT-PCR 试剂 SYBR Premix Ex Taq 购自日本 Takaka 公司,反应在 PCR 仪 (ABI 7500 real-time PCR System, 美国 ABI 公司) 上进行。

扩增体系: 反转录产物 2 μL , Premix Ex TaqTM (2 \times) 10.0 μL , 适量 10 $\mu\text{mol/L}$ 上、下游引物 (I-FABP 上、下游引物各 0.4 μL , PEPT1 上、下游引物各 2.0 μL , 18S rRNA 上、下游引物各 0.2 μL), ROX Reference Dye II (50 \times) 0.4 μL , 灭菌蒸馏水加至总体积 25 μL 。

反应条件: 95 $^{\circ}\text{C}$ 30 s 预变性; 95 $^{\circ}\text{C}$ 5 s, 60 $^{\circ}\text{C}$ 34 s 进行 40 个循环。每循环第 2 步结束时进行荧光信号收集。每个待测样品设置 3 个重复, 对得到的 3 个 Ct 值取算术平均值, 以备带入公式进行计算。

1.6 标准曲线的建立

分别将 I-FABP、PEPT1 和 18S rRNA 的总 RNA 反转录产物用双蒸水依次梯度稀释成 $1 \sim 1 \times 10^{-7}$, 选择 $1 \sim 1 \times 10^{-4}$ 共 5 个浓度为标准品, 标准品反应条件同上, 设置 3 个重复。基线由 PCR 仪自动设置, 标准曲线由软件自动分析, 得到斜率和扩增效率。

1.7 产物测序

PCR 产物送杭州博尚生物技术有限公司测序, 采用 Blast 软件将所得到的基因序列与 Genebank 中登录的猪 I-FABP、PEPT1 和 18S rRNA 基因序列进行序列同源性比较, 测得同源性均是 100%。

1.8 数据处理

根据系统自动分析的 I-FABP、PEPT1 以及 18S rRNA 标准曲线可得:

$$E = 10^{-1/\text{slope}}$$

式中: E 为 PCR 扩增效率, slope 为斜率。

I-FABP、PEPT1 和 18S rRNA 的扩增效率都接近 100% 且相互间效率偏差在 5% 以内, 以目的基因 mRNA 的拷贝数与对应样品内参基因 mRNA 的拷贝数的比值表示 mRNA 的相对表达量, 运用 SPSS 16.0 软件进行单因素方差分析和相关分析。数据采用柱状表来表示, 图中的误差线表示标准差。

2 结果

2.1 总 RNA 抽提

对所抽提样品进行吸光度检测结果为 $\text{OD}_{260\text{nm}}:\text{OD}_{280\text{nm}}$ 为 1.82 ~ 2.05, 说明总 RNA 样品完整、降解较少、质量良好, 可用于进一步试验操作。

2.2 实时定量 PCR 标准曲线的建立

采用模板为 $1 \sim 1 \times 10^{-4}$ 共 5 个浓度梯度的标准 cDNA 分别进行 I-FABP、PEPT1 和 18S rRNA 定量 PCR 反应, 得到实时定量 PCR 标准曲线, 曲线拟合度 (R^2) 为 0.999 2 ~ 0.999 9, 扩增效率为 99.6% ~ 105.8%, 效率及拟合度均良好, 可用于表达量定量分析。

2.3 不同肠段 I-FABP 和 PEPT1 mRNA 表达的空间特异性

将对照组仔猪相同肠段 5 个不同时间点的 mRNA 样品混合后进行 PCR 反应, 得出 I-FABP mRNA 在空肠表达量最高, 回肠其次, 十二指肠较低, 各肠段之间差异不显著 ($P > 0.05$) (图 1 - A); PEPT1 mRNA 在十二指肠的表达量较高, 空肠其次, 回肠较低, 各肠段间差异也不显著 ($P > 0.05$) (图 1 - B)。

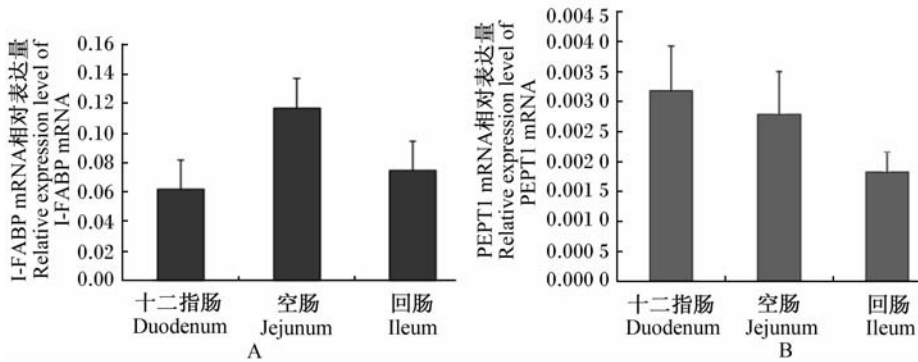


图1 断奶仔猪不同肠段 I-FABP 和 PEPT1 mRNA 相对表达量

Fig. 1 Relative expression levels of I-FABP and PEPT1 mRNA in different intestinal segments of weaner piglets

2.4 断奶仔猪 I-FABP 和 PEPT1 mRNA 表达的发育性变化及谷氨酰胺对其的影响

采用相对定量方案,引入内参基因 18S rRNA 矫正初始细胞数、RNA 抽提效率等不可控制因素,归一化起始组织量。将 27 头断奶仔猪十二指肠、空肠、回肠相对定量数据带入公式计算得到 I-FABP(图 2-A、B、C)和 PEPT1(图 2-D、E、F)在不同时间点各肠段表达量变化规律。

I-FABP mRNA 的表达量在十二指肠、空肠和回肠的表达量变化趋势基本一致,均在断奶后急剧下降,断奶后第 3 天的表达量最低,显著低于断奶当天($P < 0.05$),之后表达量逐渐升高,至断奶后第 14 天达到最高值,但仍低于断奶前水平。试验组不同时间点十二指肠、空肠、回肠黏膜的 I-FABP mRNA 的表达量均高于对照组,但差异不显著($P > 0.05$)。断奶第 14 天,对照组十二指肠、空肠、回肠黏膜的 I-FABP mRNA 表达量均显著低于断奶当天($P < 0.05$),而试验组各肠段 I-FABP mRNA 表达量均与断奶当天相比不显著($P > 0.05$),表明饲料中添加谷氨酰胺可促使断奶仔猪十二指肠、空肠、回肠黏膜的 I-FABP mRNA 表达提前恢复至断奶前水平。

PEPT1 mRNA 在十二指肠、空肠和回肠的表达量变化趋势也基本一致,在断奶后急剧下降,断奶第 3 天的表达量最低且显著低于断奶当天($P < 0.05$),之后表达量逐渐升高,至断奶后第 14 天达到最高值。PEPT1 mRNA 在十二指肠的表达量从断奶第 5 天开始超过断奶当天水平,在空肠和回肠的表达量在断奶后第 14 天仍低于断奶当天。试验组不同时间点十二指肠、空肠、回肠黏膜的

PEPT1 mRNA 的表达量均高于对照组,但差异不显著($P > 0.05$)。断奶第 5 天,对照组 PEPT1 mRNA 在十二指肠的表达量与断奶当天无显著差异($P > 0.05$),但试验组表达量显著高于断奶当天($P < 0.05$)。以上结果表明谷氨酰胺可促进断奶仔猪十二指肠 PEPT1 mRNA 的表达提前恢复至断奶前水平。

3 讨论

3.1 断奶仔猪肠道 I-FABP mRNA 表达的发育性变化

在小肠内,哺乳动物 I-FABP 与食物中长链脂肪酸的吸收、运输以及脂类合成、分解代谢有着密切关系^[11-12]。I-FABP 首先从肠道黏膜细胞质分离得来,在哺乳动物其表达被认为仅在肠道和胃部^[13]。姜延志等^[14]首次克隆并研究了猪的 I-FABP 表达的组织特异性,研究表明猪体内 I-FABP 基因在多器官组织中都有表达并且肠道中表达量最为丰富。I-FABP 基因的表达与组织和个体发育差异有关^[13]。本试验的结果表明,断奶仔猪 I-FABP mRNA 的表达量在十二指肠、空肠和回肠无显著差异。有研究报道在肠道,从十二指肠到结肠,从绒毛顶端到肠隐窝,随着上皮细胞摄取配基长链脂肪酸(LCFA)能力的降低,I-FABP 基因表达呈明显递减的阶梯状分布^[15-16]。本研究结果与相关报道略有不同,这可能是由于检测方法和选用的动物有一定的差异,也可能是因为断奶仔猪的肠道基因表达规律与成年哺乳动物略有不同。

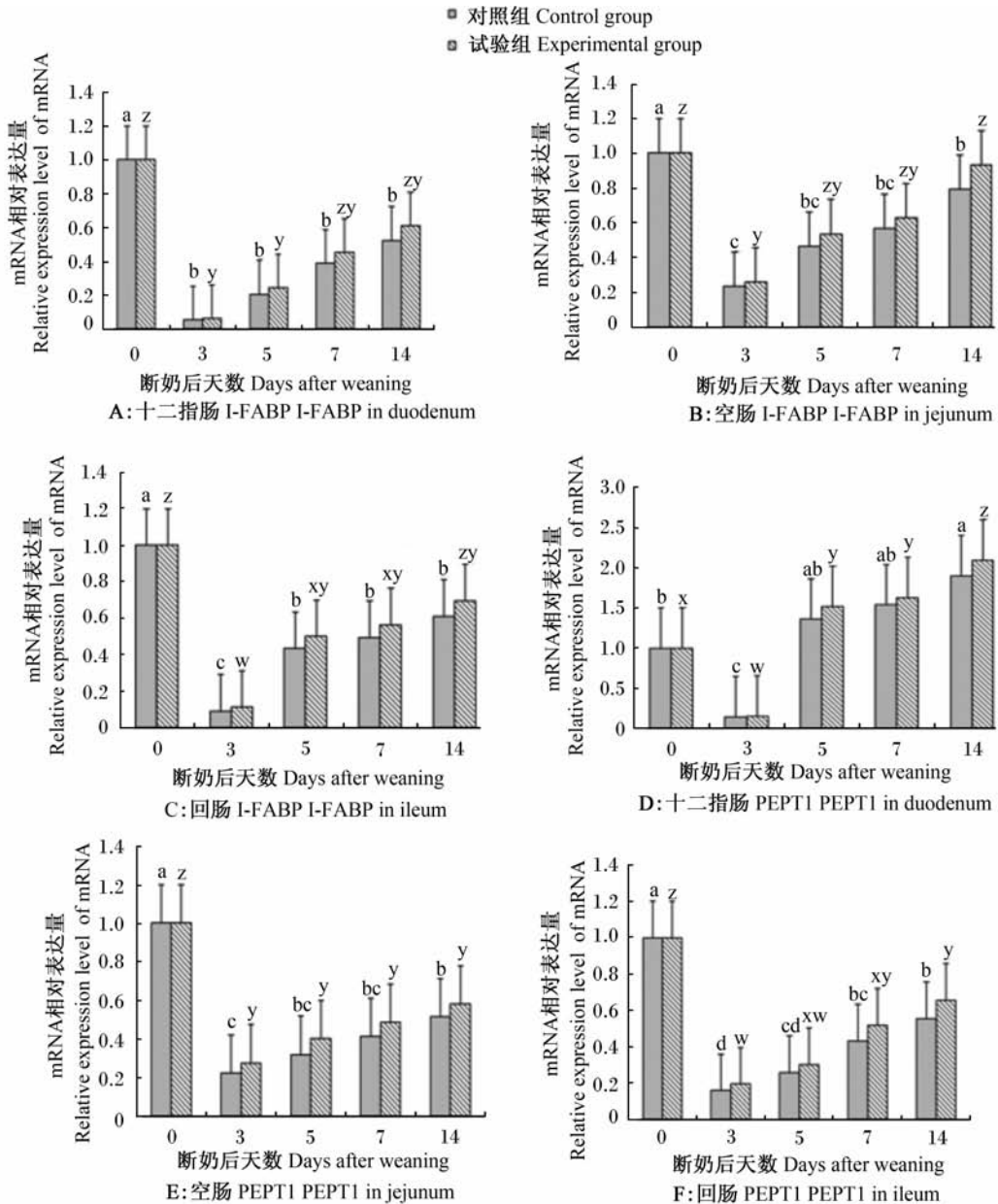


图2 谷氨酰胺对断奶仔猪十二指肠、空肠、回肠的 I-FABP 和 PEPT1 mRNA 相对表达量的影响

Fig. 2 Effects of glutamine on relative expression levels of I-FABP and PEPT1 mRNA in the duodenum, jejunum and ileum of weaner piglets

通过采用免疫印迹(Northern blot)方法检测 I-FABP 基因在 2、6、12 周龄的肉鸡高脂系公鸡和白耳公鸡小肠中组织中的表达的研究表明,该基因在不同时期、不同品种间的表达谱不一致;同时,

分别采用 Northern blot 和 RT-PCR 2 种方法检测 I-FABP 基因的表达特性,表明不同方法检测出该基因表达的组织特异性也不一样,并进一步验证了 RT-PCR 具有更高的灵敏性^[13]。目前还有没有关

于断奶仔猪 *I-FABP* 基因发育性变化的相关报道,本试验采用 RT-PCR 方法检测的结果表明, *I-FABP* mRNA 在十二指肠、空肠和回肠的表达量均是从断奶后第 3 天开始呈现递增的趋势,至断奶后第 14 天达到最高值,但仍低于断奶前水平。

3.2 断奶仔猪肠道 PEPT1 mRNA 表达的发育性变化

PEPT1 作为肽转运体主要在小肠中表达,对小肽的吸收起到关键性作用。PEPT1 蛋白和 mRNA 在几种动物的十二指肠和空肠都已检测到,在回肠低量表达,结肠在正常情况下不表达^[17],不同种属动物体内、同一个体内不同器官 PEPT1 mRNA 分布不一致。不同动物 PEPT1 在小肠内的分布有 2 种模式:1)沿肠管垂直轴方向,PEPT1 mRNA 的表达由绒毛顶部向隐窝部位逐渐下降;2)沿肠管纵轴方向,由十二指肠至回肠 PEPT1 分布密度逐渐降低^[18-19]。Chen 等^[20]用 Northern blot 的方法研究表明,空肠 PEPT1 mRNA 表达量最高,其次为十二指肠,回肠最低,结肠不表达。哺乳藏猪空肠 PEPT1 mRNA 表达量高于十二指肠及回肠,表明空肠仍可能是小肽吸收的主要场所^[21-22]。鸡以十二指肠中的表达量最高,其次为空肠和回肠;兔的 PEPT1 mRNA 表达量在十二指肠和空肠最多,回肠次之,结肠最少^[23]。邹仕庚等^[24]研究发现,60 日龄长白猪肠道对寡肽的吸收转运主要发生于十二指肠、空肠和回肠,尽管十二指肠 PEPT1 mRNA 的表达量较高,但由于十二指肠的肠段较短,寡肽的主要吸收转运部位还是位于空肠和回肠。由此说明研究结果的不相同可能由于检测方法的差异、动物种属、年龄、肠段样品大小以及小肠采样位置的影响。

Miyamoto 等^[25]用 Northern blot 分析表明大鼠 4 日龄小肠中 PEPT1 表达量最高,而后至 28 日龄 PEPT1 表达量呈下降趋势。陈敦学等^[22]研究表明在藏猪哺乳阶段,不同肠段 PEPT1 mRNA 的发育性表达变化并不一致,肠段的不同部位在小肽的吸收上可能存在差异。本试验研究表明,PEPT1 mRNA 在十二指肠、空肠、回肠的表达量均在断奶后急剧下降,从断奶后第 3 天逐渐升高,至断奶第 14 天达到最高值。

3.3 谷氨酰胺对断奶仔猪肠道 I-FABP、PEPT1 mRNA 表达的影响

谷氨酸胺作为一种条件性必需氨基酸,在动

物处于特殊生长阶段如断奶期或应激期间可显著提高小肠对营养物质的吸收能力^[26]。赵玉蓉等^[27]研究表明谷氨酰胺能显著促使断奶仔猪骨髓、空肠黏膜抗菌肽 PR-39 mRNA 及骨髓的骨髓组织抗菌肽 1 (PG-1) mRNA 表达上调,减缓免疫抑制,表明谷氨酰胺对断奶仔猪基因表达调控有一定的作用。本试验结果显示不同肠段、不同时间点试验组的 *I-FABP* 和 PEPT1 mRNA 表达量始终高于对照组,但无显著影响。添加谷氨酰胺可促使断奶仔猪十二指肠、空肠、回肠黏膜的 *I-FABP* 和十二指肠 PEPT1 mRNA 表达提前恢复至断奶前水平。试验结果提示谷氨酰胺对 *I-FABP* 和 PEPT1 mRNA 的表达有一定的促进作用。

4 结 论

① *I-FABP* mRNA 的表达量在空肠最高,回肠其次,十二指肠较低,但各肠段之间差异不显著; PEPT1 mRNA 在十二指肠的表达量较高,空肠其次,回肠中的表达量较低,各肠段间无显著差异。

② *I-FABP* 和 PEPT1 mRNA 在十二指肠、空肠和回肠的表达量均在断奶后急剧下降,断奶第 3 天的表达量最低,显著低于断奶当天,从断奶后第 3~14 天表达量逐渐升高。

③ 添加谷氨酰胺仔猪 *I-FABP* 和 PEPT1 mRNA 表达略提高,添加谷氨酰胺可促使断奶仔猪十二指肠、空肠、回肠粘膜的 *I-FABP* 及十二指肠 PEPT1 mRNA 表达提前恢复至断奶前水平。

参考文献:

- [1] ZIMMERMAN A W, VAN MOERKERK H T, VEERKAMP J H. Ligand specificity and conformational stability of human fatty acid-binding proteins [J]. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 2001, 33(9): 865-876.
- [2] 刘忠臣,陈代文,余冰,等. 不同脂肪来源对断奶仔猪生长性能和脂类代谢的影响[J]. *动物营养学报*, 2011, 23(9): 1466-1474.
- [3] HO S Y, STORCH J. Common mechanisms of monoacylglycerol and fatty acid uptake by human intestinal in Caco-2 cells [J]. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 2001, 281(4): C1106-C1117.
- [4] 初丽丽,王启贵,关天竹,等. *I-FABP* 基因侧翼区多态性与鸡生长和胴体组成性状的相关研究[J]. *东北农业大学学报*, 2008, 39(9): 70-74.

- [5] SWEETSER D A, BIRKENMEIER E H, KLISAK I J, et al. The human and rodent intestinal fatty acid binding protein genes. A comparative analysis of their structure, expression, and linkage relationships [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1987, 262 (33): 16060 - 16071.
- [6] MILOVIC V, TURCHANOWA L, STEIN J, et al. Transepithelial transport of putrescine across monolayers of the human intestinal epithelial cell line, Caco-2 [J]. *World Journal of Gastroenterology*, 2001, 7 (2): 193 - 197.
- [7] CHARRIER L, MERLIN D. The oligopeptide transporter hPepT1: gateway to the innate immune response [J]. *Laboratory Investigation*, 2006, 86 (6): 538 - 546.
- [8] WU G Y, KNABLE D A. Free and protein bound amino acids in sow's colostrums and milk [J]. *The Journal of Nutrition*, 1994, 124 (3): 415 - 424.
- [9] SALLOUM R M, SOUBA W W, KLIMBERG V S, et al. Glutamine is superior to glutamate in supporting gut metabolism, stimulating intestinal glutaminase activity and preventing bacterial translocation [J]. *Surg Forum*, 1989, 40: 6 - 8.
- [10] 刘涛, 彭健, 周诗其, 等. 外源性谷氨酰胺和谷氨酸对早期断奶仔猪肠黏膜形态、结构和小肠吸收功能及骨骼肌中 DNA、RNA 浓度的影响 [J]. *中国兽医学报*, 2003, 23 (1): 62 - 65.
- [11] MONTOUDIS A, DELVIN E, MENARD D, et al. Intestinal-fatty acid binding protein and lipid transport in human intestinal epithelial cells [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2006, 339 (1): 248 - 254.
- [12] MONTOUDIS A, SEIDMAN E, BOUDREAU F, et al. Intestinal fatty acid binding protein regulates mitochondrion β -oxidation and cholesterol uptake [J]. *The Journal of Lipid Research*, 2008, 49: 961 - 972.
- [13] VEERKAMP J H, MAATMAN R G. Cytoplasmic fatty acid-binding proteins; their structure and genes [J]. *Progress in Lipid Research*, 1995, 34 (1): 17 - 52.
- [14] 姜延志, 李学伟. 猪 *I-FABP* 基因的分子克隆与组织特异性表达分析 [J]. *遗传学报*, 2006, 33 (2): 125 - 132.
- [15] APONTE G W. PYY-mediated fatty acid induced intestinal differentiation [J]. *Peptides*, 2002, 23 (2): 367 - 376.
- [16] 常晓彤, 侯丽娟, 王振辉, 等. *IFABP* 基因单核苷酸多态性与 2 型糖尿病患者血清脂质水平的关系 [J]. *中国糖尿病杂志*, 2007, 15 (5): 285 - 288.
- [17] ADIBI S A. Regulation of expression of the intestinal oligopeptide transporter (Pept-1) in health and disease [J]. *American Journal of Physiology and Gastrointestinal*, 2003, 285 (5): 779 - 788.
- [18] OGIHARA H, SUZUKI T, NAGAMACHI Y, et al. Peptide transporter in the rat small intestine: ultrastructural localization and the effect of starvation and administration of amino acids [J]. *The Histochemical Journal*, 1999, 31 (3): 169 - 174.
- [19] TANAKA H, MIYAMOTO K I, MORITA K, et al. Regulation of the PepT1 peptide transporter in the rat small intestine in response to 5-fluorouracil-induced injury [J]. *Gastroenterology*, 1998, 114 (4): 714 - 723.
- [20] CHEN H, WONG E A, WEBB K E, Jr. Tissue distribution of a peptide transporter mRNA in sheep, dairy cows, pigs, and chickens [J]. *Journal of Animal Science*, 1999, 77 (5): 1277 - 1283.
- [21] 石常友, 宾石玉, 褚武英, 等. 藏猪肠道不同部位 CAT1、EAAC1 和 Pept1 mRNA 的特异性分布 [J]. *广西师范大学学报: 自然科学版*, 2009, 27 (3): 71 - 75.
- [22] 陈敦学, 石常友, 宾石玉, 等. 哺乳藏猪肠道 CAT1、EAAC1 和 Pept1 mRNA 的发育性表达分析 [J]. *广西师范大学学报: 自然科学版*, 2010, 28 (1): 63 - 67.
- [23] FREEMAN T C, BENTSEN B S, THWESAIT D T, et al. H⁺/di-tripeptide transporter (PepT1) expression in the rabbit intestine [J]. *Pflügers Archiv European Journal of Physiology*, 1995, 430 (3): 390 - 400.
- [24] 邹仕庚, 冯定远, 黄志毅, 等. 猪肠道寡肽转运载体 1 (PepT1) mRNA 表达的肠段特异性和发育性变化 [J]. *农业生物技术学报*, 2009, 17 (2): 229 - 236.
- [25] MIYAMOTO K I, SHIRAGA T, MORITA K, et al. Sequence, tissue distribution and developmental changes in rat intestinal oligopeptide transporter [J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Gene Structure and expression*, 1996, 1305 (1/2): 34 - 38.
- [26] 杨彩梅, 徐卫丹, 陈安国. 甘氨酸 - L - 谷氨酰胺对断奶仔猪性能和消化道吸收功能的影响 [J]. *中国畜牧杂志*, 2005, 41 (8): 6 - 7.
- [27] 赵玉蓉, 王红权, 贺建华, 等. 谷氨酰胺对断奶仔猪抗菌肽 PR-39 mRNA 的表达调控 [J]. *动物营养学报*, 2009, 21 (4): 567 - 572.

Intestinal Fatty Acid Binding Protein and Dipeptide Transporter 1 mRNA in the Small Intestinal Mucosa of Weaner Piglets: Developmental Expression and Influence of Glutamine

ZHOU Lin CAO Guangtian ZHANG Shuai YANG Caimei* CHEN Anguo HONG Qihua
(College of Animal Science, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

Abstract: This study was conducted to investigate the developmental expression of intestinal fatty acid binding protein (I-FABP) and dipeptide transporter 1 (PEPT1) mRNA in the small intestinal mucosa of weaner piglets and the influence of glutamine (Gln). Sixty nine crossed piglets (Duroc × Landrace × Large white) aged (21 ± 3) d were used as the experimental animals, 3 piglets were slaughtered at the day of weaning, and the rest 66 piglets were divided into two groups with 3 replicates in each group and 11 piglets per replicate. Piglets in the control group and the experimental group were fed a basal diet and the basal diet + 1% Gln, respectively. Three piglets were slaughtered at 3, 5, 7 and 14 d after weaning, respectively. Mucosal tissues were collected from the duodenum, jejunum and ileum. Real-time PCR was applied to determine the mRNA expressions of I-FABP and PEPT1. The results showed as follows: 1) no significant difference was observed in the mRNA expression levels of I-FABP and PEPT1 in the duodenum, jejunum and ileum ($P < 0.05$); 2) the mRNA expression levels of I-FABP and PEPT1 in the duodenum, jejunum and ileum were decreased obviously due to the weaning, and the expression levels of piglets at the 3rd day postweaning reached the lowest and were significantly lower than those at the weaning day ($P < 0.05$), then the expression levels were increased and reached a peak at the 14th day postweaning; 3) there was no significant difference in mRNA expression levels of I-FABP and PEPT1 between the control group and the experimental group ($P > 0.05$), however, the experimental group showed a trend that I-FABP mRNA expression level in the duodenum, jejunum and ileum as well as PEPT1 mRNA expression level in the duodenum recovered to normal levels early. The results indicate that the mRNA expression levels of I-FABP and PEPT1 in the duodenum, jejunum and ileum of weaner piglets change over time, and Gln plays a role in promoting the recovery of I-FABP and PEPT1 mRNA expression levels of weaner piglets. [*Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2012, 24(4):704-711]

Key words: weaner piglet; small intestinal mucosa; absorption; I-FABP; PEPT1; glutamine