

小肽调控奶牛乳腺乳蛋白合成的作用机制

付琳 张丽 王高富 董贤文*

(重庆市畜牧科学院, 荣昌 402460)

摘要: 小肽作为乳蛋白合成的前体物之一, 已证明其具有促进乳蛋白合成的功能, 但其调控乳蛋白合成的潜在机制尚未明确。本文从小肽对乳蛋白合成的影响、小肽的吸收与降解以及小肽调控乳蛋白合成的机制 3 个层面, 综述小肽调控奶牛乳腺乳蛋白合成的作用机制, 以期为奶牛乳蛋白合成的机制研究提供更多的理论依据。

关键词: 奶牛; 乳腺; 小肽; 乳蛋白合成; 机制

中图分类号: S823

文献标识码: A

文章编号: 1006-267X(2020)05-1989-08

乳蛋白是人类膳食蛋白质的重要来源以及牛乳品质的关键评定指标, 因而促进乳蛋白的合成是奶牛科学的研究热点和重点。传统的蛋白质消化吸收理论认为, 蛋白质营养即为氨基酸营养。氨基酸不仅是乳蛋白合成的重要前体物质^[1-2], 其还可作为信号分子参与调控乳蛋白的合成^[3-5]。但进一步的研究发现, 氨基酸在乳腺中的吸收因氨基酸结构、极性、氨基酸转运载体数量和活性等的影响而存在竞争性抑制, 乳腺吸收的游离氨基酸量不能完全满足乳腺乳蛋白合成的需要, 从而降低限制性氨基酸补充提高乳腺游离氨基酸利用率的效用^[6-7]。研究显示, 反刍动物对小肽有特殊需要, 乳腺乳蛋白的合成过程中, 许多必需氨基酸来源于以小肽结合的形式存在, 非游离态的氨基酸(血液循环中的肽及肽结合氨基酸)也可作为前体物用于乳蛋白合成^[8-9]。在奶牛乳腺上皮细胞中, 含有蛋氨酸(Met)、赖氨酸(Lys)、苏氨酸(Thr)、苯丙氨酸(Phe)等限制性氨基酸的小肽都表现出促进乳蛋白合成的能力^[10-11]。随着小肽在营养学中的应用与发展, 有必要进一步研究小肽调控乳蛋白合成的潜在机制。因此, 本文从小肽对乳蛋白合成的影响、小肽的吸收与降解、小

肽调控乳蛋白合成的机制 3 个层面, 阐述小肽对奶牛乳腺乳蛋白合成的影响及调控机制, 为进一步研究小肽促进乳蛋白合成提供思路。

1 小肽对乳蛋白合成的影响

小肽是由 2~3 个氨基酸组成的具有特定生物功能的小分子物质。在动物生产中, 小肽可以通过提高机体对蛋白质、脂肪及矿物质的吸收利用率^[12-13]、增强机体的免疫力^[14]以及提升瘤胃微生物活力等^[15]来提高动物的生产性能。在奶牛营养研究领域, 小肽营养对乳蛋白合成的影响是目前的研究热点之一。小肽可以提高乳蛋白的合成效率, 小肽的浓度和小肽包含的氨基酸组成也是影响乳蛋白合成的重要因素。

1.1 小肽提高乳蛋白合成效率

奶牛乳腺上皮细胞(bovine mammary epithelial cells, BMEC)能够利用含 2 或 3 个氨基酸组成的小肽合成乳蛋白。试验证明, 含有 Met、Lys 的二肽能够显著促进 BMEC 中乳蛋白的合成。当小肽等量替代相应游离氨基酸时, 含有小肽的试验组中乳蛋白基因的表达量显著高于游离氨基酸组, 培养液中乳蛋白的实测浓度也有提高^[10-11, 16-17]。

收稿日期: 2019-10-17

基金项目: 重庆市博士后科研项目特别资助(XmT2018001); 重庆市 2019 年科研机构绩效激励引导专项(19242); 重庆市市级财政科研项目(19519)

作者简介: 付琳(1990—), 女, 河南三门峡人, 助理研究员, 硕士, 主要从事反刍动物营养研究。E-mail: lyfl1990@163.com

* 通信作者: 董贤文, 助理研究员, E-mail: dxwcqky@163.com

因此,小肽具有优于游离氨基酸促进 BMEC 乳蛋白合成的效率。

1.2 小肽浓度对乳蛋白合成的影响

小肽相对于游离氨基酸虽然具有更高的吸收效率,但是只有适宜浓度的小肽具有促进 BMEC 生长、增殖和分泌乳蛋白的正向调控作用,小肽浓度过低或者过高则可能会抑制其生长且影响其基因的表达^[18]。不同浓度的小肽培养 BMEC 时,乳腺上皮细胞的细胞活力在小肽浓度较高时会出现一定程度的下降^[19]。培养基中添加不同浓度的小肽,BMEC 酪蛋白基因表达量会出现差异较大的低剂量和高剂量的抑制作用^[20-21]。只有在 BMEC 培养基中添加最适宜浓度的小肽时,酪蛋白基因的表达量最高,如 Phe-Phe 添加比例为培养基中游离 Phe 总量的 10%,Met-Met 添加量为 80 $\mu\text{g}/\text{mL}$,最能促进 BMEC 酪蛋白的合成^[10,19,22-23]。

1.3 小肽的氨基酸组成对乳蛋白合成的影响

小肽不同氨基酸的组成对 BMEC 中乳蛋白基因的表达具有调控作用。在比较含 Met 的不同氨基酸组成的小肽调控乳蛋白合成的试验中,在适宜浓度下,二肽比等量替换的游离氨基酸有更强的促乳蛋白合成能力,其中 Met-Met 小肽的作用最明显,显著上调小肽转运载体 2 (oligopeptide transporter 2, *PepT2*)、酪蛋白基因以及酪蛋白的表达,其次为 Met-Lys 小肽,也能够显著上调酪蛋白基因的表达;氨基酸组成的其他二肽或三肽,如 Met-色氨酸 (Trp)、Met-Phe、Met-Thr、Met-异亮氨酸 (Ile) 不同程度地促进了酪蛋白基因的表达, Met-Ile、Met-亮氨酸 (Leu)、Met-缬氨酸 (Val) 抑制酪蛋白基因的表达,而 Met-Met-Met、精氨酸 (Arg)-组氨酸 (His)-Ile 提高酪蛋白基因表达的能力弱于二肽^[24-26]。这些研究表明,二肽相对于游离氨基酸和三肽具有更强的促乳蛋白合成的能力。但是适宜的三肽氨基酸组成对乳蛋白的合成调控仍有必要进一步研究。

2 奶牛乳腺中小肽的吸收和降解

肽是机体内蛋白质消化代谢为氨基酸或氨的中间产物,不同动物以及不同组织对肽吸收和代谢的特点有差异^[27-28]。奶牛乳腺组织中小肽的吸收和降解也有其组织特异性。

2.1 奶牛乳腺对小肽的利用

在 1953 年,Agar 首先观察到肠道能完整地转

运双甘肽;1960 年,Newey 等发现小肽可以完整形式被肠道细胞吸收;Matthews 随后在动物体内发现了寡肽的转运系统;以 Chen 和 Webb 等为代表的学者还逐渐发现肽营养在反刍动物生产中的重要性^[29-30]。自此,学术界关于小肽影响乳蛋白合成的营养研究也进入更多人的视野。众多研究表明,动物体摄入的蛋白质被胃蛋白酶和胰蛋白酶水解后,以游离氨基酸和小肽的形式直接被胃肠道黏膜吸收进入体循环,血液中存在的小肽结合氨基酸 (peptide-bound amino acids, PBAA) 也作为乳蛋白合成的前体物质^[31-32]。目前公认的乳腺利用肽的机制可能包括 3 种:1) 肽在乳腺细胞外被降解为游离氨基酸,而后被吸收利用;2) 乳腺直接吸收完整的肽,在细胞代谢为游离氨基酸后被吸收利用;3) 前 2 种形式协同作用来参与乳腺小肽的吸收^[11]。

2.2 奶牛乳腺对小肽的吸收

小肽和氨基酸转运系统相互独立存在。小肽转运速度快、耗能低、不易饱和,相比氨基酸转运系统,蛋白以肽的形式提供更易被机体吸收。目前,哺乳动物中已经发现的小肽转运载体 (oligopeptide transports, PepTs) 有 4 种,即小肽转运载体 1 (oligopeptide transporter 1, *PepT1*)、*PepT2*、小肽组氨酸转运载体 1 (peptide histidine transporter 1, *PhT1*)、小肽组氨酸转运载体 2 (peptide histidine transporter 2, *PhT2*)。小肽转运载体有着广泛的底物适应性,主要靠主动跨膜转运来完成绝大多数的二肽、三肽、肽的类似物等细胞内外营养离子的平衡交换^[33-35]。

2.2.1 奶牛乳腺中的 *PepT2*

PepT2 是奶牛乳腺中参与小肽吸收与代谢最重要的小肽转运载体。*PepT2* 在奶牛乳腺中的表达主要存在于奶牛乳腺的细胞质中,在 BMEC 摄取小肽中发挥重要作用,至少有一部分的小肽能够通过 *PepT2* 摄取进入乳腺上皮细胞影响乳蛋白的合成^[10-11]。敲除 *PepT2* 显著减少了小肽的吸收,降低了乳蛋白的合成。此外,当氨基酸以肽的形式提供,*PepT2* 还可以避免部分氨基酸转运载体间的竞争,从而间接地提高乳腺对其他游离氨基酸的吸收^[36]。

2.2.2 奶牛乳腺中的 *PepT1*

PepT1 在奶牛乳腺中的作用具有争议性。在一些研究中未检测到 *PepT1* 在奶牛乳腺组织中的

表达^[35,37]。但是,崔艳^[38]通过转录组检测发现了 *PepT1* 在奶牛乳腺存在明显的表达,且还明确了 *PepT1* 存在于奶牛乳腺的细胞膜上。其构建的 pIRES2-EGFP-*PepT1* 转染到奶牛乳腺上皮细胞后,乳蛋白基因均有了显著的上调表达。此外,其在 BMEC 培养基中添加 Thr-Phe-Phe 三肽,*PepT1* 基因的表达显著增强。因此,*PepT1* 具有调控奶牛乳腺酪蛋白基因表达的功能,同时其自身的基因表达也受小肽的调控。

2.2.3 奶牛乳腺中的 PhT1 和 PhT2

近年来的研究发现,*PhT1* 也能在奶牛乳腺组织中表达,但其在奶牛乳腺小肽的摄取中并未发挥作用。Wang 等^[39]的研究检测到 *PhT1* 在奶牛乳腺中表达,但是进一步敲除 *PhT1* 后并未影响 BMEC 对小肽的摄取。郭静^[40]的研究同样发现,*PhT1* 在奶牛乳腺组织中表达,且明确了 *PhT1* 主要定位于细胞膜,干扰 *PhT1* 对小肽(β -Ala-Lys-AMCA 和 Met-Met)摄取量无影响。*PhT2* 在奶牛乳腺组织中可以少量表达,其在奶牛的盲肠、肺脏和胸腺中表达量最高。目前对奶牛乳腺中 *PhT2* 的报道较少,*PhT2* 对奶牛乳腺乳蛋白合成的调控作用有待进一步研究。

因此,*PepT1*、*PepT2*、*PhT1* 和 *PhT2* 均在奶牛乳腺组织中检测到表达,目前 *PepT2* 是调控奶牛乳腺摄取小肽中最重要的小肽转运载体,其他 3 种小肽转运载体的乳蛋白合成调控作用有待进一步研究确定。

2.3 奶牛乳腺中小肽的降解

BMEC 中的肽浓度是肽降解、吸收和利用等综合代谢的反映。研究显示,机体中蛋白质被胃胰酶消化后,能够进一步被肽酶从多肽链的 N 末端切断第 2 个肽键,酶解产生大量的二肽和三肽,大部分小肽以完整形式被吸收利用;少部分小肽被二肽酶和三肽酶降解为游离氨基酸^[41-42]。氨基肽酶 N (aminopeptidase N, APN) 受到血浆循环肽的调节,可以从 N 端切断寡肽^[43]。研究发现,APN 可在乳腺组织中表达,敲除或过表达 APN 可延迟或加速乳腺的发育^[44]。Yang 等^[11]在 BMEC 培养基中添加 Met-Met 二肽,能够促进 APN 的表达丰度,加入 APN 抑制剂后,乳蛋白的合成明显下降。APN 可将 Met-Met 二肽水解为游离氨基酸,用于乳蛋白的合成。因此,APN 对小肽的水解可能是乳蛋白合成调控的一种潜在方式。

3 小肽调控乳蛋白合成的分子机制

小肽对乳蛋白合成调控的影响因素较多,目前已证实了肽链的长度、结构和构型、小肽的理化性质等都能影响小肽的吸收进而影响奶牛乳蛋白的合成。小肽还能够通过影响乳腺上皮细胞的数量、*PepT2* 和信号通路等调控奶牛乳蛋白的合成。

3.1 调控乳腺上皮细胞增殖促乳蛋白合成

BMEC 的数量和活力决定了奶牛的泌乳量^[45]。同时,一定程度上 BMEC 的数量和活力也决定了牛奶的品质^[46]。在 BMEC 的培养基中添加 Met 二肽后,培养 BMEC 的时间也与细胞活力有一定关系,BMEC 在培养 24 h 时活力较高,细胞中酪蛋白基因的表达量较高,随着细胞培养时间的延长,BMEC 的增殖能力降低^[47]。研究发现,添加 80 $\mu\text{g}/\text{mL}$ Met-Met 可促进 BMEC 细胞周期从 G1 期转变到 S 期,提高细胞周期蛋白 D1 的表达,促进 BMEC 的增殖,刺激乳腺上皮细胞乳蛋白的合成^[23,36]。

3.2 小肽转运载体调控乳蛋白的合成

PepT2 是目前已明确的具有重要调控作用的小肽转运载体。当 BMEC 培养基中小肽浓度增加,*PepT2* 的数量也随之增加。研究显示,*PepT2* 的蛋白数量同转运小肽的多少呈正相关关系^[16,48]。有研究通过焦碳酸二乙酯(diethylpyrocarbonate, DEPC)破坏 *PepT2* 蛋白功能,抑制了乳腺中二肽的转运,最终降低乳蛋白基因的表达和乳蛋白的合成^[11,22]。Wang 等^[36]用修饰 *PepT2* 的组氨酸残基来阻断 *PepT2* 的功能,显著降低了 Met-Met 刺激下奶牛乳腺 $\alpha\text{s}1$ 酪蛋白(CSN1S1)基因表达的增加。保证 *PepT2* 的数量和功能对小肽调控乳蛋白合成具有重要作用。

3.3 小肽对乳蛋白合成信号通路的调控

近年研究显示,小肽也可介导信号通路,如哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)信号通路、Janus 激酶 2 (JAK2) - 信号转导和转录激活因子 5 (STAT5) 信号通路、磷脂酰肌醇-3-羟激酶(PI3K) - 蛋白激酶 B (AKT) 信号通路影响乳蛋白的合成。

3.3.1 JAK2-STAT5 信号通路

JAK2-STAT5 信号通路是在转录水平介导催乳素和生长因子刺激乳蛋白的合成,催乳素和生长因子与 BMEC 上相应受体的结合导致 JAK2 磷

酸化,进而磷酸化 STAT5,磷酸化的 STAT5 形成二聚体进入细胞核,通过结合乳蛋白基因的启动子和增强子来诱导表达,在乳腺发育和乳蛋白合成中发挥重要作用^[49-50]。Yang 等^[11]的研究显示,肽结合氨基酸是 JAK2-STAT5 信号通路的关键激活因子,BMEC 培养基中添加 15% Met-Met 二肽显著增加 JAK2 和 STAT5 基因的表达丰度, Met-Met 可能通过激活 JAK2-STAT5 信号通路来介导奶牛乳腺 CSN1S1 的表达。有研究结果显示, 80 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 Met-Met 显著增加 JAK2 和 STAT5 基因 mRNA 的丰度,提高了 JAK2、STAT5 的磷酸化,上调了 β 酪蛋白 (CSN2) 基因的表达;抑制 JAK2 活力后,BMEC 细胞的增殖和乳蛋白的合成也随之下降。研究提示 Met-Met 增加 CSN1S1 的合成,可能是通过 JAK2-STAT5 信号通路来介导的^[23,36]。

3.3.2 mTOR 信号通路

mTOR 是高度保守的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,其在翻译水平上通过影响 mRNA 与 43S 起始复合物的结合以及真核起始因子 4E 结合蛋白 1 (eukaryotic initiation factor 4E binding protein 1, 4EBP1)、核糖体 S6 激酶 1 (p70 ribosomal protein S6 kinase 1, S6K1) 的磷酸化,调控细胞生长和蛋白质的合成^[51-54]。周苗苗等^[55-56]的研究显示, Lys-Leu、Lys-Lys、Lys-His 比游离 Lys 培养 BMEC 时,显著提高 mTOR 和 4EBP1 基因的表达, Lys-Lys、Lys-His 还促进 S6K1 基因的表达,其研究还发现,mTOR 对 Lys-Lys 组 CSN1S1 基因的表达丰富无显著影响,但能显著抑制游离 Lys 组 CSN1S1 基因的表达, mTOR 通过降低 mTOR、4EBP1、S6K1 的活性进而抑制 CSN1S1 的合成,而 Lys-Lys 小肽降低了这种抑制作用。多位学者的研究结果还显示,最适宜浓度的 Met-Met 二肽,能够显著增加 BMEC 中 mTOR、4EBP1、S6K1 基因 mRNA 的表达丰度,提高其磷酸化水平,促进乳蛋白基因的表达,而抑制 mTOR 信号通路中关键基因 mTOR 的活力后,BMEC 中乳蛋白的合成也随之下降。因此,BMEC 最适宜浓度小肽的促乳蛋白合成作用,可能是通过 mTOR 信号通路介导的^[7,11]。除此之外,王彩红^[23]的研究发现,PepT2 的表达和活性还受到 mTOR 的调控,哺乳动物雷帕霉素靶蛋白复合物 1 (mammalian target of rapamycin complex 1, mTORC1) 和哺乳动物雷帕霉素靶蛋白复

合物 2 (mammalian target of rapamycin complex 2, mTORC2) 均是其调控因子,神经前体细胞表达发育抑制蛋白 4-2 (neural precursor cell-expressed developmentally down-regulated 4-2, Nedd 4-2) 调控并介导 mTORC1 对 PepT2 表达和功能的调控,进而影响细胞对小肽的吸收。

3.3.3 PI3K-Akt 信号通路

PI3K-Akt 是调控细胞生长、增殖、凋亡和营养转运的重要信号通路^[57-58]。研究显示,细胞对氨基酸、寡肽的转运是通过 PI3K 信号通路进行调控^[59-60]。抑制 PI3K-Akt 信号通路能够调控 PepT1 和 PepT2,降低小肽的转运^[61-62]。Wang 等^[39]抑制 PI3K 和 AKT 的作用,发现可以减弱 BMEC 中 PepT2 的表达以及 β -Ala-Lys-AMCA 的吸收。这些研究提示,PI3K-Akt 信号通路能够调控小肽转运载体的活性,进而调控 BMEC 中小肽的吸收。

4 小 结

小肽对乳蛋白合成具有重要调控作用,其可以弥补因氨基酸比例模式或氨基酸转运载体竞争性抑制等问题导致的乳蛋白合成下降。目前在奶牛乳腺中发现的小肽转运载体为 PepT1、PepT2、PhT1 和 PhT2,其中 PepT2 的功能作用较为明确,其他 3 种小肽转运载体在奶牛乳腺的转运功能和乳蛋白合成调控作用还需要进一步研究。调控机制方面,小肽对乳腺乳蛋白合成的研究集中在细胞水平的验证,目前还鲜有奶牛个体水平的小肽调控机制试验报道。小肽的浓度对奶牛乳腺上皮细胞的增殖和活力具有显著影响,但是具体机制仍不清楚。小肽可以通过调控信号通路 mTOR、JAK2-STAT5 和 PI3K-AKT 的活性影响奶牛乳腺上皮细胞乳蛋白的合成,但是小肽对乳蛋白合成相关的其他信号通路的活性调控以及信号通路之间的互作效应仍缺乏了解。因此,有必要结合现代生物分子学技术,依靠转录组学、代谢组学或蛋白组学等技术手段或平台从吸收代谢、基因表达及基因网络构建和功能蛋白活性等层面进一步研究小肽对乳蛋白合成的调控。同时,明确小肽在乳蛋白合成过程中的作用机制后,还需要进一步进行分子营养调控技术提高奶牛乳蛋白合成效率的个体水平验证试验,为提高奶牛生产性能、提升乳品质提供新的研究思路和方法。

参考文献:

- [1] LI S S, LOOR J J, LIU H Y, et al. Optimal ratios of essential amino acids stimulate β -casein synthesis via activation of the mammalian target of rapamycin signaling pathway in MAC-T cells and bovine mammary tissue explants [J]. *Journal of Dairy Science*, 2017, 100(8) : 6676–6688.
- [2] GIALLONGO F, HARPER M T, OH J, et al. Effects of rumen-protected methionine, lysine, and histidine on lactation performance of dairy cows [J]. *Journal of Dairy Science*, 2016, 99(6) : 4437–4452.
- [3] NAN X M, BU D P, LI X Y, et al. Ratio of lysine to methionine alters expression of genes involved in milk protein transcription and translation and mTOR phosphorylation in bovine mammary cells [J]. *Physiological Genomics*, 2014, 46(7) : 268–275.
- [4] LIU G M, HANIGAN M D, LIN X Y, et al. Methionine, leucine, isoleucine, or threonine effects on mammary cell signaling and pup growth in lactating mice [J]. *Journal of Dairy Science*, 2017, 100(5) : 4038–4050.
- [5] CONEJOS J R, LEE J S, PARK J S, et al. Supplementing *L*-isoleucine increases medium protein and alters the expression of genes and proteins involved in milk protein synthesis and energy metabolism in bovine mammary cells [J]. Preprints, 2019, doi: 10.20944/preprints201906.0063.v1.
- [6] MABJEESH S J, KYLE C E, MACRAE J C, et al. Vascular sources of amino acids for milk protein synthesis in goats at two stages of lactation [J]. *Journal of Dairy Science*, 2002, 85(4) : 919–929.
- [7] TAYLOR P M. Role of amino acid transporters in amino acid sensing [J]. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2014, 99(1) : 223S–230S.
- [8] BACKWELL F R, BEQUETTE B J, WILSON D, et al. Utilization of dipeptides by the caprine mammary gland for milk protein synthesis [J]. *American Journal of Physiology: Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 1994, 267(1) : R1–R6.
- [9] WAND S P, WEBB K E, Jr, AKERS M R. Peptide-bound methionine can be a source of methionine for the synthesis of secreted proteins by mammary tissue explants from lactating mice [J]. *The Journal of Nutrition*, 1996, 126(6) : 1662–1672.
- [10] ZHOU M M, WU Y M, LIU H Y, et al. Effects of phenylalanine and threonine oligopeptides on milk protein synthesis in cultured bovine mammary epithelial cells [J]. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 2015, 99(2) : 215–220.
- [11] YANG J X, WANG C H, XU Q B, et al. Methionyl-methionine promotes α -s1 casein synthesis in bovine mammary gland explants by enhancing intracellular substrate availability and activating JAK2-STAT5 and mTOR-mediated signaling pathways [J]. *The Journal of Nutrition*, 2015, 145(8) : 1748–1753.
- [12] 孙崇源. 小肽和半胱胺对肉用仔鸡生产性能的影响及机理研究 [D]. 硕士学位论文. 邯郸: 河北工程大学, 2015.
- [13] 吴信, 印遇龙, 邢芳芳, 等. 国内外微量元素氨基酸螯合物的应用研究进展 [J]. *猪业科学*, 2008, 35(3) : 68–71.
- [14] REN Z H, YUAN W, DENG H D, et al. Effects of antibacterial peptide on cellular immunity in weaned piglets [J]. *Journal of Animal Science*, 2015, 93(1) : 127–134.
- [15] 马惠茹, 陈艳君, 赵玉娥. 小肽营养在奶牛生产中的应用效果 [J]. *中国牛业科学*, 2009, 35(2) : 16–17.
- [16] ZHOU M M, WU Y M, LIU H Y, et al. Effects of tripeptides and lactogenic hormones on oligopeptide transporter 2 in bovine mammary gland [J]. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 2011, 95(6) : 781–789.
- [17] 周苗苗, 崔景香. 小肽氨基酸组成对体外培养的奶牛乳腺组织乳蛋白合成的影响 [J]. *江苏农业科学*, 2017, 45(18) : 166–168.
- [18] 毕微微. 蛋氨酸、赖氨酸二肽对奶牛乳腺上皮细胞泌乳机能的影响 [D]. 硕士学位论文. 哈尔滨: 东北农业大学, 2013.
- [19] 高学军, 毕微微, 林叶, 等. 四种二肽对奶牛乳腺上皮细胞增殖及 β -酪蛋白分泌的影响 [J]. *东北农业大学学报*, 2013, 44(3) : 16–20.
- [20] 郭春利. 蛋氨酸寡肽对奶牛乳腺上皮细胞酪蛋白合成相关基因表达的影响 [D]. 硕士学位论文. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2017.
- [21] 孙康玉. 小肽对奶牛乳腺细胞乳蛋白合成的影响 [D]. 硕士学位论文. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2012.
- [22] 周苗苗, 吴跃明, 刘红云, 等. 小肽转运载体 2 在奶牛乳腺小肽摄取中的作用研究 [J]. *动物营养学报*, 2011, 23(8) : 1303–1308.
- [23] 王彩红. 小肽转运载体 2 在奶牛乳腺上皮细胞 Met-Met 摄取中的作用及其调控机制研究 [D]. 博士学位论文. 杭州: 浙江大学, 2018.

- [24] 夏婷. 肽结合与游离氨基酸比例对离体乳腺组织酪蛋白合成的影响[D]. 硕士学位论文. 泰安: 山东农业大学, 2012.
- [25] 陈璐. 蛋氨酸二肽对奶牛乳腺上皮细胞乳蛋白合成相关基因表达的影响[C]//中国畜牧兽医学会动物营养学分会第十二次动物营养学术研讨会论文集. 北京: 中国畜牧兽医学会, 2016: 497.
- [26] 常晨城. 蛋氨酸及含蛋氨酸二肽对奶牛乳腺上皮细胞内乳蛋白合成相关基因表达的影响[D]. 硕士学位论文. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2015.
- [27] 张楠楠, 张永根, 王志博, 等. 反刍动物肽代谢的研究进展[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2011(9): 26-28.
- [28] 徐凤霞. 绵羊瘤胃内寡肽代谢规律的研究[D]. 硕士学位论文. 泰安: 山东农业大学, 2004.
- [29] CHEN G, SNIFFEN C J, RUSSELL J B. Concentration and estimated flow of peptides from the rumen of dairy cattle: effects of protein quantity, protein solubility, and feeding frequency [J]. *Journal of Dairy Science*, 1987, 70(5): 983-992.
- [30] WEBB K E, Jr, MATTHEWS J C, DIRIENZO D B. Peptide absorption: a review of current concepts and future perspectives [J]. *Journal of Animal Science*, 1992, 70(10): 3248-3257.
- [31] RÉMOND D, BERNARD L, PONCET C. Free and peptide amino acid net flux across the rumen and the mesenteric- and portal-drained viscera of sheep [J]. *Journal of Animal Science*, 2000, 78(7): 1960-1972.
- [32] SMITH D E, CLÉMENCON B, HEDIGER M A. Proton-coupled oligopeptide transporter family SLC15: physiological, pharmacological and pathological implications [J]. *Molecular Aspects of Medicine*, 2013, 34(2/3): 323-336.
- [33] NEWSTEAD S. Recent advances in understanding proton coupled peptide transport via the POT family [J]. *Current Opinion in Structural Biology*, 2017, 45: 17-24.
- [34] MINHAS G S, NEWSTEAD S. Structural basis for prodrug recognition by the SLC15 family of proton-coupled peptide transporters [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2019, 116(3): 804-809.
- [35] XU Q B, LIU Z X, LIU H Y, et al. Functional characterization of oligopeptide transporter 1 of dairy cows [J]. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 2018, 9: 7.
- [36] WANG C, ZHAO F, LIU J, et al. Dipeptide (methionyl-methionine) transport and its effect on β -casein synthesis in bovine mammary epithelial cells [J]. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 2018, 49(2): 479-488.
- [37] 周苗苗. 奶牛乳腺中小肽的摄取及其在乳蛋白合成中的作用[D]. 博士学位论文. 杭州: 浙江大学, 2011.
- [38] 崔艳. 泌乳奶牛乳腺中小肽转运载体的鉴定及其生理特性的研究[D]. 博士学位论文. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2015.
- [39] WANG C H, SUN Y L, ZHAO F Q, et al. Functional characterization of peptide transporters in bovine mammary epithelial cells [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2019, 67(1): 213-219.
- [40] 郭静. 奶牛 POTs 的表达及小肽对乳腺上皮细胞乳蛋白合成的影响[D]. 硕士学位论文. 扬州: 扬州大学, 2015.
- [41] WALLACE R J, ATASOGLU C, NEWBOLD C J. Role of peptides in rumen microbial metabolism—a review [J]. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*, 1999, 12(1): 139-147.
- [42] WALLACE R J, MCKAIN N. A comparison of methods for determining the concentration of extracellular peptides in rumen fluid of sheep [J]. *The Journal of Agricultural Science*, 1990, 114(1): 101-105.
- [43] MABJEESH S J, GAL-GARBER O, MILGRAM J, et al. Aminopeptidase N gene expression and abundance in caprine mammary gland is influenced by circulating plasma peptide [J]. *Journal of Dairy Science*, 2005, 88(6): 2055-2064.
- [44] KOLB A F, SORRELL D, LASSNIG C, et al. Mammary gland development is delayed in mice deficient for aminopeptidase N [J]. *Transgenic Research*, 2013, 22(2): 425-434.
- [45] BOUTINAUD M, GUINARD-FLAMENT J, JAMMES H. The number and activity of mammary epithelial cells, determining factors for milk production [J]. *Reproduction Nutrition Development*, 2004, 44(5): 499-508.
- [46] REZAEI R, WU Z L, HOU Y Q, et al. Amino acids and mammary gland development; nutritional implications for milk production and neonatal growth [J]. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 2016, 7: 20.
- [47] 郭春利. 蛋氨酸寡肽对奶牛乳腺上皮细胞酪蛋白合成相关基因表达的影响[D]. 硕士学位论文. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2017.
- [48] TAKAHASHI K, MASUDA S, NAKAMURA N, et al. Upregulation of H⁺-peptide cotransporter PEPT2 in

- rat remnant kidney[J]. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 2001, 281(6): F1109-F1116.
- [49] ZHANG M C, ZHAO S G, WANG S S, et al. *D*-glucose and amino acid deficiency inhibits casein synthesis through JAK2/STAT5 and AMPK/mTOR signaling pathways in mammary epithelial cells of dairy cows[J]. *Journal of Dairy Science*, 2018, 101(2): 1737-1746.
- [50] RÄDLER P D, WEHDE B L, WAGNER K U. Crosstalk between STAT5 activation and PI3K/AKT functions in normal and transformed mammary epithelial cells[J]. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 2017, 451: 31-39.
- [51] DAI W T, WHITE R R, LIU J X, et al. Seryl-tRNA synthetase-mediated essential amino acids regulate β -casein synthesis via cell proliferation and mammalian target of rapamycin (mTOR) signaling pathway in bovine mammary epithelial cells[J]. *Journal of Dairy Science*, 2018, 101(11): 10456-10468.
- [52] DONG X, ZHOU Z, SAREMI B, et al. Varying the ratio of Lys:met while maintaining the ratios of Thr:Phe, Lys:Thr, Lys:His, and Lys:Val alters mammary cellular metabolites, mammalian target of rapamycin signaling, and gene transcription[J]. *Journal of Dairy Science*, 2018, 101(2): 1708-1718.
- [53] DONG X, ZHOU Z, WANG L, et al. Increasing the availability of threonine, isoleucine, valine, and leucine relative to lysine while maintaining an ideal ratio of lysine:methionine alters mammary cellular metabolites, mammalian target of rapamycin signaling, and gene transcription[J]. *Journal of Dairy Science*, 2018, 101(6): 5502-5514.
- [54] SIGL T, MEYER H H, WIEDEMANN S. Gene expression analysis of protein synthesis pathways in bovine mammary epithelial cells purified from milk during lactation and short-term restricted feeding[J]. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 2014, 98(1): 84-95.
- [55] 周苗苗, 崔景香. 赖氨酸二肽对奶牛乳腺 mTOR 信号通路元件基因表达的影响[J]. *西北农业学报*, 2017, 26(7): 963-967.
- [56] 周苗苗, 崔景香. 含赖氨酸二肽对奶牛乳蛋白合成和乳腺氨基酸转运相关基因表达的影响[J]. *中国畜牧兽医*, 2016, 43(5): 1156-1161.
- [57] SHEPPARD K, KINROSS K M, SOLOMON B, et al. Targeting PI3 kinase/AKT/mTOR signaling in cancer[J]. *Critical Reviews™ in Oncogenesis*, 2012, 17(1): 69-95.
- [58] LAURING J, PARK B H, WOLFF A C. The phosphoinositide-3-kinase-Akt-mTOR pathway as a therapeutic target in breast cancer[J]. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network*, 2013, 11(6): 670-678.
- [59] SUN D L, WANG Y Q, TAN F Q, et al. Functional and molecular expression of the proton-coupled oligopeptide transporters in spleen and macrophages from mouse and human[J]. *Molecular Pharmaceutics*, 2013, 10(4): 1409-1416.
- [60] MA Y F, BATISTEL F, XU T L, et al. Phosphorylation of AKT serine/threonine kinase and abundance of milk protein synthesis gene networks in mammary tissue in response to supply of methionine in periparturient Holstein cows[J]. *Journal of Dairy Science*, 2019, 102(5): 4264-4274.
- [61] WARSJ J, HOSSEINZADEH Z, DONG L, et al. Effect of Janus kinase 3 on the peptide transporters PEPT1 and PEPT2[J]. *The Journal of Membrane Biology*, 2013, 246(12): 885-892.
- [62] COON S D, RAJENDRAN V M, SCHWARTZ J H, et al. Glucose-dependent insulinotropic polypeptide-mediated signaling pathways enhance apical *PepT1* expression in intestinal epithelial cells[J]. *American Journal of Physiology: Gastrointestinal and Liver Physiology*, 2015, 308(1): G56-G62.

Regulation Mechanism of Small Peptides to Milk Protein Synthesis in Bovine Mammary Gland

FU Lin ZHANG Li WANG Gaofu DONG Xianwen*
(Chongqing Academy of Animal Sciences, Rongchang 402460, China)

Abstract: It has been demonstrated small peptides as one of the precursors promoted the milk protein synthesis, but little is known about the underlying mechanisms. Therefore, this paper reviewed three parts related to the effect of small peptides to milk protein synthesis, the molecular mechanism of small peptides to milk protein synthesis regulation and the mechanism of transportation and degradation of small peptides in bovine mammary gland, which aims to supply more theoretical basis for mechanism research relative to milk protein synthesis in dairy cows in the future. [*Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2020, 32(5):1989-1996]

Key words: dairy cows; mammary gland; small peptides; milk protein synthesis; mechanism