

猪肠道钠氢交换载体(NHE3)mRNA表达的肠段特异性和发育性变化

邹仕庚^{1,2}, 冯定远^{1*}, 黄志毅¹, 李岩³, 吴同山³,
左建军¹, 职爱民¹, 董泽敏¹, 张常明¹, 刘清神¹

(1. 华南农业大学动物科学学院, 广州 510642;
2. 广东科贸职业学院, 广州 510430; 3. 东莞市畜牧科学研究所, 东莞 523086)

摘要: 旨在探讨猪肠道钠氢交换载体(NHE3)mRNA表达的肠段特异性和发育模式, 为NHE在养猪生产中的应用提供理论依据。选取遗传背景相同的1、7、26、30、60、90和150 d蓝塘和长白公猪各5头, 测体质量后屠宰, 取十二指肠、空肠、回肠和结肠组织样品; 以18S rRNA为内标基因, 用实时荧光定量PCR法检测NHE3 mRNA在60 d长白猪表达的肠段特异性及其在蓝塘和长白猪肠道表达的发育模式。结果显示: 长白猪肠道NHE3 mRNA的表达丰度为结肠、十二指肠、空肠和回肠依次降低, 且结肠显著高于空肠和回肠($P < 0.05$)。不同猪种NHE3 mRNA在十二指肠和空肠的表达模式相似; 蓝塘和长白猪NHE3 mRNA的表达丰度分别在7和30 d(十二指肠)、7和26 d(空肠)达最高水平($P < 0.05$)。不同猪种结肠NHE3 mRNA的表达模式不同, 分别与其在十二指肠和空肠的发育呈现不同的模式; 蓝塘猪结肠NHE3 mRNA的表达丰度在26、90和150 d时显著低于长白猪($P < 0.05$)。以上结果说明, 猪肠道NHE3 mRNA的表达受到发育阶段、品种和肠段的调控, 且在十二指肠和空肠间具有品种稳定性。

关键词: 猪; 肠道; NHE3 mRNA; 肠段特异性; 发育模式

中图分类号: S828; S852.2

文献标识码: A

文章编号: 0366-6964(2009)03-0343-06

Segmental Distribution and Ontogenetic Regulation of NHE3 mRNA Expression in Intestine of Pigs

ZOU Shi-geng^{1,2}, FENG Ding-yuan^{1*}, HUANG Zhi-yi¹, LI Yan³, WU Tong-shan³,
ZUO Jian-jun¹, ZHI Ai-min¹, DONG Ze-min¹, ZHANG Chang-ming¹, LIU Qing-shen¹

(1. College of Animal Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China; 2. Guangdong Vocational College of Science and Trade, Guangzhou 510430, China; 3. Dongguan Institute of Animal Science, Dongguan 523086, China)

Abstract: Segmental distribution and ontogenetic regulation of sodium hydrogen exchanger (NHE3) mRNA expression were evaluated in pigs along the horizontal axis of the intestine. A total of 35 littermate purebred Lantang gilts and 35 littermate purebred Landrace gilts were divided into seven groups at the ages of day 1, 7, 26, 30, 60, 90 and 150, respectively. Samples of intestinal segments (duodenum, jejunum, ileum and colon) were collected. The NHE3 mRNA abundance was determined by real-time RT-PCR using SYBR Green I RT-PCR mix Kit. Results showed that the abundance of NHE3 mRNA was highest in colon and lowest in jejunum and ileum ($P < 0.05$). The ontogenetic expression of NHE3 mRNA in duodenum and jejunum of Lantang and Landrace pigs were similar. The highest expression abundance of NHE3 mRNA were 7

收稿日期: 2008-01-23

基金项目: 国家重点基础研究发展计划(973)项目(2004CB117501)

作者简介: 邹仕庚(1973-), 男, 博士, 主要从事分子营养学研究, E-mail: scanzou@tom.com

* 通讯作者: 冯定远, 教授, 博导, 主要从事分子营养学研究, E-mail: fengdy@scau.edu.cn

d of Lantang and 30 d of Landrace in duodenum, 7 d of Lantang and 26 d of Landrace in jejunum ($P < 0.05$). The expression pattern of *NHE3* mRNA in colon was differed from duodenum and jejunum. Abundance of *NHE3* mRNA of Lantang pigs on 26, 90 and 150 d were lower than that of Landrace pigs ($P < 0.05$) in colon. The results indicated that *NHE3* mRNA expression could be regulated by developmental stages, breeds and segments of intestine in pigs.

Key words: pig; intestine; *NHE3* mRNA; segmental distribution; ontogenetic regulation

钠/氢交换载体(sodium hydrogen exchanger, NHE)是一类重要的膜蛋白,其生理作用是进行细胞外 Na^+ 和细胞内 H^+ 的电中性交换,是调节细胞内 pH 值和细胞体积的重要膜离子转运蛋白之一。到目前为止,在动物体细胞已发现的 NHE 有 9 种亚型;其中,第一个被克隆的 NHE1 亚型在组织中普遍有很高的表达,而被认为是“持家”基因;而其它的几种 NHE 亚型表达都具有组织特异性,NHE2 和 NHE3 亚型主要在肠道中存在。NHE2 和 NHE3 位于哺乳动物小肠细胞刷状缘膜(brush border membrane, BBM)和结肠细胞表面,而 NHE1 则位于肠上皮细胞基底膜(basolateral membrane, BLM)^[1-4]。在小肠,BBM 顶端的 NHE 参与中性的 NaCl 吸收、 HCO_3^- 吸收和 H^+ 分泌^[5]。此外,肠道的 NHE 还与腹泻有关^[6]。

有关 *NHE2* 和 *NHE3* mRNA 在人、兔和大鼠肠道中的组织特异性表达及发育性变化已有报道^[7-9],但在猪肠道中的表达及发育模式还未见报道。蓝塘猪是我国优良地方品种,其抗逆性强,断奶时腹泻的应激反应小,但生长速度慢;而长白猪是世界著名的瘦肉型猪种,其饲料转化效率和胴体瘦肉率高,但抗逆性差,断奶时较易发生下痢。本研究分别选用遗传背景相同的蓝塘和长白猪,于 1、7、26、30、60、90 和 150 日龄采集试猪十二指肠、空肠、回肠和结肠样品;运用荧光相对定量 RT-PCR 方法研究猪肠道 *NHE3* mRNA 表达的肠段特异性,不同品种猪十二指肠、空肠和结肠 *NHE3* mRNA 表达的发育模式,并进行品种间比较;揭示猪肠道 *NHE3* mRNA 的表达规律,为 *NHE3* 在养猪生产中的作用提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 试验动物与样品采集

1.1.1 试验动物与饲养 选取遗传背景相同的 1 日龄蓝塘仔猪 70 头和长白仔猪 90 头(均购自广东

省东莞市板岭原种猪场)。仔猪 7 日龄开始用乳猪料进行诱食,28 日龄断奶。哺乳期仔猪随母猪饲养在高床产房里,断奶后第 3 天转入保育舍。哺乳期间仔猪不分组饲养,断奶后选取断奶体质量无显著差异的蓝塘仔猪 50 头(20 头公猪)和长白仔猪 70 头(22 头公猪),分别将其随机分到 5 个重复,蓝塘猪每个重复 10 头,长白猪每个重复 14 头(其中公猪平均分布到各个重复)。按照实验猪场的饲养管理规程及免疫程序进行饲养。整个饲养过程猪只自由采食、饮水。日粮组成及营养水平参照文献^[10]。

1.1.2 组织采样 分别于 1、7、26、30、60、90 和 150 日龄,每组随机选取接近平均体质量的公猪,每重复 1 头共 10 头,颈动脉放血宰杀,宰前不禁食。分离肠道,沿纵向剖开,用 4 °C 预冷的 PBS 缓冲液冲洗,吸水纸吸干。分别从十二指肠、空肠、回肠和结肠中段各取 3 cm 肠段,作为十二指肠、空肠、回肠和结肠样品,把所取组织样品迅速放入 1.5 mL 离心管中,置液氮速冻,−80 °C 冷冻保存备用。

1.2 肠道 *NHE3* mRNA 的实时荧光定量 RT-PCR

1.2.1 主要试剂和仪器 参照文献^[11]

1.2.2 RNA 抽提和反转录 采用 Trizol 一步抽提法提取组织样的总 RNA, DNase I 处理以消除基因组微量 DNA 污染,测定总 RNA 浓度(Biophotometer 6131, Eppendorf)。用 1.5% 甲醛变性琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 的质量($\text{OD}_{260}/\text{OD}_{280}$ 为 1.8~2.0),将 RNA 统一稀释成 $0.5 \mu\text{g} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ 。反转录参照文献^[11]进行,反转录产物−20 °C 保存备用。

以 60 d 长白猪肠道各段样品为模板,研究猪肠道 *NHE3* mRNA 表达的肠段特异性;以蓝塘猪和长白猪十二指肠、空肠和结肠样品为模板,研究不同品种猪肠道 *NHE3* mRNA 表达的发育性变化。

1.2.3 引物设计 用持家基因 18S rRNA 作为内标基因。从 GenBank 检索猪 *NHE3* mRNA 和 18S rRNA 基因序列,用 Primer 5.0 软件设计引物(表 1),由上海英骏生物技术有限公司合成。

表 1 NHE3 mRNA 和 18S rRNA 基因引物参数

Table 1 Parameters of primer pairs for NHE3 and 18S rRNA gene

基因 Gene	引物序列(5'-3') Primer sequence	PCR 产物长度/bp PCR product length
NHE3 mRNA(AF123280)	F: AGCTGGAGATCATAGACCAGGTG R: CGGTGAAGAAGATGACGATGAG	147
18S rRNA(AY390526)	F: AATCCGATAACGAACGAGACT R: GGACATCTAAGGCATCACAG	145

1.2.4 PCR 反应及产物回收和克隆测序 反应体系为 25 μL ; 反转录产物 2 μL , *Taq* DNA 聚合酶(5 U \cdot μL^{-1}) 0.5 μL , 10 \times buffer 2.5 μL , dNTPs(10 mmol \cdot L^{-1}) 0.5 μL , MgCl_2 (25 mmol \cdot L^{-1}) 1.5 μL , 上、下游引物(10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 各 1 μL , 加 DEPC 水至 25 μL 。PCR 程序: 94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min; 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s, 57 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 45 s, 循环 35 次; 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min。PCR 产物用 1.5% 琼脂糖凝胶电泳分离, 回收目的片段, 用 DNA 凝胶回收试剂盒纯化。回收的 DNA 片段与 pGEM-T Easy Vector 载体连接, 连接反应产物转化宿主菌 DH5 α 感受态细胞。用质粒 DNA 提取试剂盒提取质粒, PCR 鉴定后, 送上海英骏生物技术有限公司测序。测序结果表明目的基因和内标基因片段均成功扩增。

1.2.5 实时荧光 RT-PCR 用等比稀释 10 倍的方法将 PCR 产物重组质粒稀释成系列标准品, 以此标准品为模板进行实时荧光 RT-PCR, 每个样品 2 个重复, 根据 C_t 值以及相应标准品的浓度制作标准曲线。

在 25 μL 的反应体系中包括 2 \times SYBR Green Master Mix 12.5 μL , 反转录产物(cDNA 模板) 2 μL , 上、下游引物(10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 各 1 μL , 补灭菌双蒸水至 25 μL 。样品的实时荧光 RT-PCR 反应条件为: 95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 1 min; 95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 15 s, 58 $^{\circ}\text{C}$ 退火 15 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 15 s, 79 $^{\circ}\text{C}$ 读板 30 s, 共进行 40 个循环。反应结束后进行熔解曲线分析。每个样品做 2 个重复, 所有样品用 18S 进行归一化处理。用 $2^{-\Delta C_t}$ 计算 NHE3 mRNA 的相对表达量^[12]。

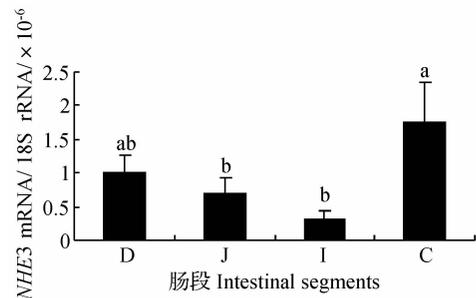
1.3 统计分析

试验数据以平均数 \pm 标准误($\bar{x} \pm s$) 表示, 用 SPSS(15.0) 统计软件分析数据, 用单因子方差分析(one-way ANOVA) 进行差异显著性检验, 采用 LSD 法进行多重比较。

2 结果

2.1 猪肠道 NHE3 mRNA 表达的肠段特异性

NHE3 mRNA 在猪肠道中表达的肠段特异性如图 1。从图 1 可以看出, 60 d 长白猪十二指肠、空肠、回肠和结肠的 NHE3 mRNA 表达丰度由结肠、十二指肠、空肠和回肠的顺序依次降低; 其中, 结肠 NHE3 mRNA 的表达丰度显著高于空肠和回肠($P < 0.05$), 但与十二指肠间的表达丰度无显著差异($P > 0.05$), 且十二指肠与空肠和回肠间 NHE3 mRNA 表达丰度的差异也不显著($P > 0.05$)。



图上标注不同字母者表示差异显著($P < 0.05$), $n=5$ 。D. 十二指肠; J. 空肠; I. 回肠; C. 结肠

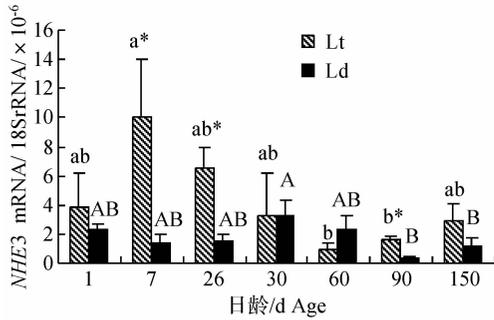
The different letters indicate significant difference between different intestinal segments ($P < 0.05$), $n=5$ D. Duodenum, J. Jejunum, I. Ileum, C. Colon

图 1 长白猪不同肠段 NHE3 mRNA 的表达丰度
Fig. 1 Segmental distribution of NHE3 mRNA abundance in intestine of Landrace pigs

2.2 十二指肠 NHE3 mRNA 表达的发育性变化

蓝塘猪和长白猪十二指肠 NHE3 mRNA 表达的发育性变化见图 2。由图 2 可知, 蓝塘猪十二指肠 NHE3 mRNA 的表达丰度在 7 d 时达最高水平, 显著高于 60 和 90 d($P < 0.05$); 长白猪十二指肠 NHE3 mRNA 的表达丰度整体上较为平稳, 在 30

d 时显著高于 90 和 150 d ($P < 0.05$), 而其它各时期的表达丰度无显著差异 ($P > 0.05$)。不同品种猪间十二指肠 *NHE3* mRNA 在相同日龄时的表达丰度有所不同, 在 7、26 和 90 d 时蓝塘猪显著高于长白猪 ($P < 0.05$), 其余各日龄时均无显著差异 ($P > 0.05$)。



同一猪种不同字母者(小写字母, 蓝塘猪(Lt); 大写字母, 长白猪(Ld)), 表示不同日龄之间差异显著 ($P < 0.05$); * . 表示同一日龄不同猪种间差异显著 ($P < 0.05$)。下图同

The different letters (lower case letters for Lantang (Lt) and capital letters for Landrace(Ld) pigs) indicate significant difference between different days in the same genotype ($P < 0.05$). * . Indicates difference between Lt and Ld at the same day ($P < 0.05$). The following figures are same

图 2 蓝塘和长白猪十二指肠 *NHE3* mRNA 表达的发育性变化

Fig. 2 Ontogenetic expression of *NHE3* mRNA abundance in duodenum of Lantang and Landrace pigs

2.3 空肠 *NHE3* mRNA 表达的发育性变化

蓝塘猪和长白猪空肠 *NHE3* mRNA 表达的发育性变化见图 3。蓝塘和长白猪空肠 *NHE3* mRNA 的表达具有不同的发育模式。不同猪种空肠 *NHE3* mRNA 的表达模式分别与其在十二指肠中的表达模式较为相似。蓝塘猪空肠 *NHE3* mRNA 的表达丰度在 7 d 时达最高水平, 显著高于 30、60、90 和 150 d ($P < 0.05$); 长白猪空肠 *NHE3* mRNA 的表达丰度整体上较为平稳, 仅在 26 d 时显著高于 7 d ($P < 0.05$), 而其它各时期的表达丰度无显著差异 ($P > 0.05$)。不同品种猪间空肠 *NHE3* mRNA 在相同日龄时的表达丰度有所不同, 在 7 d 时蓝塘猪显著高于长白猪 ($P < 0.05$), 其余各日龄时均无显著差异 ($P > 0.05$)。

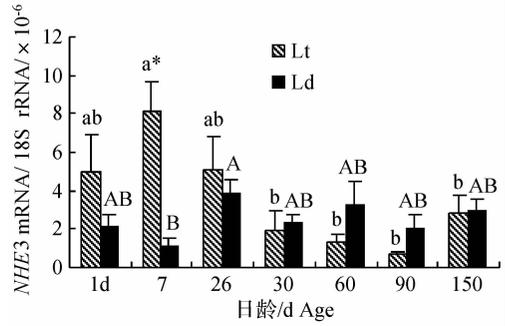


图 3 蓝塘和长白猪空肠 *NHE3* mRNA 表达的发育性变化

Fig. 3 Ontogenetic expression of *NHE3* mRNA abundance in jejunum of Lantang and Landrace pigs

2.4 结肠 *NHE3* mRNA 表达的发育性变化

蓝塘猪和长白猪结肠 *NHE3* mRNA 表达的发育性变化见图 4。蓝塘和长白猪结肠 *NHE3* mRNA 的表达具有不同的发育性变化, 表现为长白猪在断奶前(26 d)和生长后期(90 和 150 d) *NHE3* mRNA 丰度高水平的表达。不同猪种结肠 *NHE3* mRNA 分别与其在十二指肠和空肠的发育呈现出完全不同的模式。蓝塘猪结肠 *NHE3* mRNA 的表达丰度在 60 d 时最高, 但与其它各日龄间差异不显著 ($P > 0.05$); 长白猪结肠 *NHE3* mRNA 的表达丰度在 90 和 150 d 时达到最高水平, 显著高于 1 和 7 d ($P < 0.05$), 在 1 d 时表达水平最低。不同品种猪间结肠 *NHE3* mRNA 在相同日龄时的表达丰度比较, 蓝塘猪在 26、90 和 150 d 时显著低于长白猪 ($P < 0.05$), 其余各日龄间均无显著差异 ($P > 0.05$)。

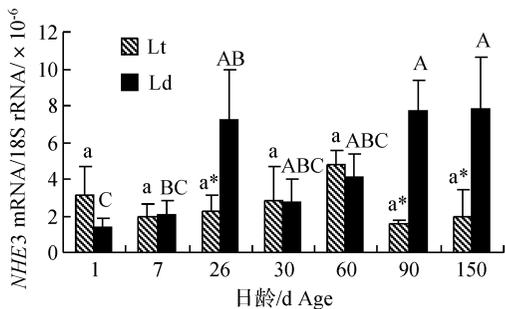


图 4 蓝塘和长白猪结肠 *NHE3* mRNA 表达的发育性变化

Fig. 4 Ontogenetic expression of *NHE3* mRNA abundance in colon of Lantang and Landrace pigs

3 讨 论

小肠黏膜刷状缘 NHE2 和 NHE3 的主要生理功能为参与 NaCl 、 HCO_3^- 的吸收和 H^+ 的分泌^[4,13]。肠道 PepT1 是近几年发现的重要营养物质转运载体之一,其对寡肽的转运需要 H^+ 浓度梯度驱动,而 NHE2 和 NHE3 对维持刷状缘表面的酸性微环境(H^+ 浓度梯度)起主要作用^[14-15]。研究发现,猪肠道 NHE3 mRNA 在结肠的表达丰度最高,显著高于空肠和回肠($P < 0.05$),回肠表达丰度最低。对猪肠道 NHE2 和 PepT1 mRNA 的肠段特异性研究表明,60 d 长白猪肠道 NHE2 和 PepT1 mRNA 都表现为在十二指肠、空肠、回肠和结肠的表达丰度依次降低,且在十二指肠的表达丰度最高,结肠不表达 PepT1 mRNA^[10,16]。以上结果表明 NHE2、NHE3 和 PepT1 mRNA 的表达在十二指肠、空肠和回肠呈现出相同的肠段特异性,NHE2 和 NHE3 共同维持刷状缘表面的 H^+ 梯度,以利于 PepT1 发挥作用;但在结肠,NHE3 mRNA 的高丰度表达似乎与维持 H^+ 梯度无关,因为结肠不表达 PepT1 mRNA。不同物种肠道 NHE3 mRNA 的表达模式不同,表明 NHE3 在不同哺乳动物肠道发挥功能的方式有所差别。猪结肠 NHE3 mRNA 高丰度的表达,是否意味着 NHE3 在结肠的水盐代谢方面发挥重要作用值得进一步研究。

动物肠道 NHEs 的调控可分为短期调控和长期调控,循环的 AMP、cGMP 和胞内 Ca^{2+} 的升高,以及神经激素和细菌毒素等对 NHEs 产生短期调控作用。NHEs 的长期调控是由肠道疾病、机体的疾病和损伤、发育阶段等引起的^[4]。在大鼠空肠上皮细胞 BBMV 中,NHE2 和 NHE3 对 Na^+ 吸收功能所起的作用随发育阶段而呈现不同的变化,二者对 Na^+ 的吸收都有作用,NHE3 对 Na^+ 的吸收在 6 周龄和 2~3 周龄时所占的比例分别为 92% 和 59%,相应地,NHE2 在 2~3 周龄、6 周龄及成年时所占的比例分别为 41%、7% 和 23%,表明在青年期和成年期大鼠,钠氢交换主要是由 NHE3 完成的,而在幼年期,则是由 NHE2 和 NHE3 共同完成的^[9]。对人胎儿 2 个发育阶段 NHE mRNA 表达丰度的研究结果发现,NHE2 和 NHE3 mRNA 在 11 和 16 周的胚胎组织中的特异性表达呈现相反的变化趋势及组织分布上的重叠^[17]。

综合先前对蓝塘和长白猪肠道 NHE2 和

NHE3 mRNA 表达的发育性变化结果表明,同一猪种 NHE2 和 NHE3 mRNA 在十二指肠、空肠、回肠和结肠中的发育性变化均较为相似,且十二指肠和空肠的 NHE2 或 NHE3 mRNA 均分别呈现出相近的发育模式,但在回肠和结肠则分别表现出不同的变化^[16]。鸡肠道 NHE2 mRNA 在十二指肠和空肠的表达模式也较为相近^[18]。猪肠道 NHE2 和 NHE3 mRNA 的发育模式与人和大鼠不同,可能是由于不同物种和不同的研究方法所致。蓝塘猪十二指肠和空肠 NHE2 或 NHE3 mRNA 的表达丰度在断奶前(28 d 断奶)均高于长白猪,而结肠的表达丰度在 26 和 150 d 时均显著低于长白猪^[16]。不同猪种断奶前肠道 NHE mRNA 表达水平的差异是否影响其对断奶后的应激反应还不清楚。饲养实践表明,蓝塘猪作为地方品种,其在抵抗断奶应激和抗下痢方面,明显优于外来的长白猪种。有研究表明,肠道 NHEs 功能的失调可导致肠道前段对营养物质吸收的障碍,在肠道后段(如结肠)还会造成腹泻^[6,19];不同猪种间肠道 NHEs mRNA 表达的差异,是否会引起对营养物质吸收和水分重吸收功能的差异值得探讨。

致谢: 本研究的实验室工作得到华南农业大学动物科学学院江青艳、张永亮教授的指导,在此表示感谢。

参考文献:

- [1] MALAKOOTI J, REFKA Y D, LARRY S, et al. Molecular cloning, tissue distribution, and functional expression of the human Na^+/H^+ exchanger NHE2 [J]. *Am J Physiol*, 1999, 277: G383-G390.
- [2] CHRISTINE A S, OBERMULLER N, BACHMANN S, et al. Molecular cloning of NHE3 from LLC-PK1 cells and localization in pig kidney [J]. *J Am Soc Nephrol*, 1999, 10: 1649-1657.
- [3] HUA X, CHEN R, GHISHAN F K. Subcloning, localization, and expression of the rat intestinal sodium-hydrogen exchanger isoform 8 [J]. *Am J Physiol*, 2005, 289: G36-G41.
- [4] NICHOLAS C Z, MING T, MARK D. Molecular physiology of intestinal Na^+/H^+ exchange [J]. *Annu Rev Physiol*, 2005, 67: 411-443.
- [5] NOEL J, ROUX D, POUYSSEGUR J. Differential localization of Na^+/H^+ exchanger isoforms (NHE1 and NHE3) in polarized epithelial cell lines [J]. *J Cell Sci*, 1996, 109 (Pt 5): 929-939.
- [6] FIELD M. Intestinal ion transport and the patho-

- physiology of diarrhea [J]. *J Clin Invest*, 2003, 111 (7): 931-943.
- [7] HOOGERWERF W A, TSAO S C, DEVUYST O, et al. NHE2 and NHE3 are human and rabbit intestinal brush-border proteins [J]. *Am J Physiol*, 1996, 270: G29-G41.
- [8] TSE C M, BRANT S R, WALKER M S, et al. Cloning and sequencing of a rabbit cDNA encoding an intestinal and kidney-specific Na^+/H^+ exchanger isoform (NHE-3) [J]. *J Biol Chem*, 1992, 267: 9340-9346.
- [9] COLLINS J F, XU H, KIELA P R, et al. Functional and molecular characterization of NHE3 expression during ontogeny in rat jejunum epithelium [J]. *Am J Physiol*, 1997, 273: C1937-C1946.
- [10] 邹仕庚. 猪肠道寡肽转运载体和钠氢交换载体 mRNA 的表达及营养调控[D]. 广州: 华南农业大学, 2008.
- [11] 周响艳, 左建军, 职爱民, 等. 猪肠道碱性氨基酸转运载体 CAT1 的 mRNA 在肠道表达的组织特异性和发育性变化 [J]. *畜牧兽医学报*, 2008, 39(2): 170-175.
- [12] LIVAK K J, SCHMITTGEN T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta C(T)}$ [J]. *Methods*, 2001, 25: 402-408.
- [13] PRAETORIUS J, ANDREASEN D, JENSEN B L, et al. NHE1, NHE2 and NHE3 contribute to regulation of intracellular pH in murine duodenal epithelial cells [J]. *Am J Physiol*, 2000, 278: G197-G206.
- [14] WATANABE C, YUKIO K, SATSUKI I, et al. Na^+/H^+ exchanger 3 affects transport property of H^+ /oligopeptide transporter 1 [J]. *Drug Metab Pharmacokinet*, 2005, 20: 443-451.
- [15] KENNEDY D J, LEIBACH F H, GANAPATHY V, et al. Optimal absorptive transport of the dipeptide glycylsarcosine is dependent on functional Na^+/H^+ exchange activity [J]. *Eur J Physiol*, 2002, 445: 139-146.
- [16] ZOU S G, FENG D Y, HUANG Z Y, et al. Molecular cloning, tissue distribution and ontogenetic expression of sodium proton exchanger (NHE2) mRNA in the small intestine of pigs (abstract) [J]. *FASEB J*, 2008, 22: 934.
- [17] 林万敏, 陈献华, 徐容, 等. 钠/氢交换蛋白 mRNA 在人胎儿两个发育阶段中的组织特异性表达 [J]. *生理学报*, 2003, 55: 79-82.
- [18] 王修启, 邹仕庚, 左建军, 等. 肉鸡肠道 NHE2 mRNA 表达的组织特异性与发育性变化 [J]. *畜牧兽医学报*, 2008, 39 (1): 42-47.
- [19] DOBLE M A, TOLA V B, CIMA R R, et al. Luminal osmolarity downregulates gene expression of Na^+/H^+ exchanger (NHE3) in rat colon mucosa [J]. *J Gastrointest Surg*, 2000, 4 (5): 531-535.