

# 5-羟色胺前体物对围产期母羊肝脏糖异生关键基因 mRNA 和蛋白质表达量的影响

桑丹<sup>1,2</sup> 娜美日嘎<sup>1,2</sup> 孙海洲<sup>2\*</sup> 金鹿<sup>2</sup> 张崇志<sup>2</sup>

张春华<sup>2</sup> 茹婷<sup>1,2</sup> 贾春雷<sup>3</sup> 敖长金<sup>1\*</sup>

(1.内蒙古农业大学动物科学学院,呼和浩特 010018;2.内蒙古农牧业科学院动物营养与饲料研究所,呼和浩特 010031;3.乌拉特前旗家畜改良工作站,巴彦淖尔 014400)

**摘要:** 本试验旨在研究 5-羟色胺(5-HT)前体物对围产期母羊肝脏糖异生关键基因 mRNA 和蛋白质表达量的影响。试验选择体况良好、体重为(64.52±4.11) kg、处于同一围产期的 30 只巴美肉羊母羊,按体重随机分为 3 组,分别为对照组(灌注生理盐水)、5-羟基色胺酸(5-HTP)组(灌注 5-HTP)和色氨酸(Trp)组(灌注 Trp),每组 10 只。在母羊围产期产前第 7 天至产后当天(第 0 天)进行颈静脉灌注,5-HTP 和 Trp 的灌注剂量均为 0.178 mg/kg BW,浓度为 0.1 mg/mL;对照组灌注同等剂量的生理盐水。试验期为产前第 7 天至产后第 30 天。结果表明:1)5-HTP 组和 Trp 组的肝脏磷酸烯醇丙酮酸羧激酶(PEPCK)、葡萄糖-6-磷酸酶(G6P)和丙酮酸羧化酶(PC)的 mRNA 表达量均显著高于对照组( $P<0.05$ )。2)5-HTP 组和 Trp 组的肝脏 PEPCK、PC 和 G6P 的蛋白质表达量均显著高于对照组( $P<0.05$ ),Trp 组的肝脏 PEPCK 的蛋白质表达量显著低于 5-HTP 组( $P<0.05$ ),Trp 组的肝脏 G6P 的蛋白质表达量显著高于 5-HTP 组( $P<0.05$ )。由此可见,5-HT 前体物不仅在转录水平,也在翻译水平起到促进肝脏糖异生的作用。

**关键词:** 5-羟色胺前体物;肝脏糖异生;围产期;母羊

中图分类号:S826

文献标识码:A

文章编号:1006-267X(2019)11-5214-07

反刍动物采食的饲料主要经瘤胃微生物发酵后分解成乙酸、丙酸和丁酸等低级脂肪酸,再经糖异生作用转变为葡萄糖被机体所利用。Bergman 等<sup>[1]</sup> 研究报道,糖异生作用可提供反刍动物所需葡萄糖的 90% 以上。特别是在围产期,葡萄糖在肝脏的净合成量和可利用性是决定乳产量的最主要限制因素<sup>[2]</sup>。因此,围产期反刍动物糖异生的“机制”必须持续快速地运转,任何“崩溃”都可能导致严重的代谢紊乱<sup>[3]</sup>。

肝脏糖异生过程会受到丙酮酸羧化酶(pyruvate carboxylase, PC)、葡萄糖-6-磷酸酶(glucose-

6-phosphatase, G6P) 和磷酸烯醇丙酮酸羧激酶(phosphoenolpyruvate carboxykinase, PEPCK) 等多个关键因子的调控,它们是糖异生途径的限速酶,其活性大小反映了机体葡萄糖异生作用的程度<sup>[4]</sup>。5-羟色胺(5-HT)是由必需氨基酸色氨酸(Trp)经 2 步反应合成的内源活性物质,5-羟基色胺酸(5-HTP)和 Trp 是其 2 步合成反应的前体物。Laporta 等<sup>[5]</sup> 研究报道,给母鼠饲喂 5-HT 前体物 5-HTP 和 Trp,能够调节围产期母鼠的肝脏糖代谢,促进母鼠肝脏糖异生关键酶的 mRNA 表达。Zabala 等<sup>[6]</sup> 给大鼠服用 5-HT,增加了肝脏中 PEP-

收稿日期:2019-06-26

基金项目:内蒙古农牧业科技创新基金项目(2018CXJM04);国家绒毛用羊产业技术体系(CARS-39-11);内蒙古自治区科技成果转化项目(CGZH2018166);公益性行业(农业)科研专项(201303062)

作者简介:桑丹(1978—),女,内蒙古呼和浩特人,硕士研究生,从事反刍动物营养研究。E-mail: sangdan1999@126.com

\* 通信作者:孙海洲,研究员,E-mail: sunhaizhou@china.com;敖长金,教授,博士生导师,E-mail: changjinao@aliyun.com

CK 的 mRNA 表达,表明 5-HT 可促进肝脏葡萄糖异生。因此,本试验旨在通过研究 5-HT 前体物对围产期母羊肝脏糖异生关键基因 mRNA 和蛋白质表达量的影响,为进一步探讨 5-HT 对于母羊肝脏糖异生的作用机制提供研究基础,也可为减缓母羊围产期的能量负平衡、提高母羊机体健康和生长性能寻求一种有效的调控途径。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验设计

试验选择体况良好、体重(64.52±4.11) kg、处于同一围产期、经同期发情配种的经产巴美肉羊母羊 30 只,按体重随机分为 3 组,即对照组(灌注生理盐水)、5-HTP 组(灌注 5-HTP)和 Trp 组(灌注 Trp),每组 10 只。5-HTP 组和 Trp 组在母羊产前第 7 天至产后当天(第 0 天)的每日 08:00 进行颈静脉灌注,5-HTP 和 Trp 的灌注剂量均为 0.178 mg/kg BW,浓度为 0.1 mg/mL;对照组灌注同等剂量的生理盐水,灌注剂量参照文献[7]。试验期为产前第 14 天至产后第 30 天,其中,预试期为产前第 14 天至产前第 8 天,正试期为产前第 7 天至产后第 30 天。试验饲粮参照 NRC(2007)绵羊营养需要量配制,基础饲粮组成及营养水平见表 1。

### 1.2 饲养管理

每日 08:00 和 17:00 各饲喂 1 次。试验期间所有母羊自由饮水,羊舍环境条件及饲养管理均保持一致。于母羊产后第 9 天,在每个试验组各随机选择 3 只母羊进行屠宰,采集其肝脏组织样品 3 g 并放入液氮中保存。

### 1.3 试验材料

主要仪器:紫外分光光度计(UV-2600,岛津公司,日本)、可见光分光光度计(722,上海光学仪器厂)、全自动纤维分析仪(ANKOM 公司,美国)、高速低温离心机(5430,艾本德公司,德国)、电泳仪(Mini-Sub Cell GT, Bio-Rad 公司,美国)、实时荧光定量 PCR 仪(CFX Connect, Bio-Rad 公司,美国)、凝胶成像分析系统(GelDoc XR+, Bio-Rad 公司,美国)、0.22 μm 聚偏二氟乙烯(PVDF)膜(Millipore 公司,美国)、蛋白质转膜仪(Bio-Rad 公司,美国)、化学发光成像系统(ChemiDoc MP, Bio-Rad 公司,美国)等。

表 1 基础饲粮组成及营养水平(干物质基础)

Table 1 Composition and nutrient levels of the basal diet (DM basis)

项目 Items	含量 Content
原料 Ingredients	
玉米秸 Corn stalk	28.40
苜蓿 Alfalfa	32.30
豆粕 Soybean meal	15.90
玉米 Corn	13.50
麸皮 Wheat bran	6.90
过瘤胃脂肪 Rumen-protected fat	2.00
预混料 Premix <sup>1)</sup>	0.50
小苏打 NaHCO <sub>3</sub>	0.25
食盐 NaCl	0.25
合计 Total	100.00
营养水平 Nutrient levels <sup>2)</sup>	
代谢能 ME/(MJ/kg)	9.88
粗蛋白质 CP	10.14
钙 Ca	0.78
磷 P	0.40
中性洗涤纤维 NDF	38.86
非纤维性碳水化合物 NFC	32.75
非纤维性碳水化合物/中性洗涤纤维 NFC/NDF	0.84

<sup>1)</sup> 每千克预混料含有 One kilogram of premix contained the following: FeSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 170 g, CuSO<sub>4</sub> · 5H<sub>2</sub>O 70 g, MnSO<sub>4</sub> · 5H<sub>2</sub>O 290 g, ZnSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 240 g, CoCl<sub>2</sub> · 6H<sub>2</sub>O 510 mg, KI 200 mg, NaSeO<sub>3</sub> 130 mg, VA 1 620 000 IU, VD<sub>3</sub> 324 000 IU, VE 540 IU, VK<sub>3</sub> 150 mg, VB<sub>12</sub> 0.9 mg, VB<sub>5</sub> 450 mg, 泛酸钙 calcium pantothenate 750 mg, 叶酸 folic acid 15 mg。

<sup>2)</sup> 代谢能、非纤维性碳水化合物和非纤维性碳水化合物/中性洗涤纤维为计算值,其他为实测值。ME, NFC and NFC/NDF were calculated values, while the others were measured values.

主要试剂:Marker(天根生化科技有限公司)、荧光定量 PCR 试剂盒(SYBR Premix EX Taq II, TaKaRa 公司,日本)、RNA 提取试剂(TaKaRa 公司,日本)、反转录试剂盒(TaKaRa 公司,日本)、核酸染料(天根生化科技有限公司)、蛋白质提取液(Sigma 公司,美国)、二喹啉甲酸(BCA)蛋白质浓度测定试剂盒(Sigma 公司,美国)、一抗(Sigma 公司,美国)、二抗(Sigma 公司,美国)、电泳液(Sigma 公司,美国)、中等蛋白质分子量 Marker(Sigma 公司,美国)等。

## 1.4 测定指标与方法

### 1.4.1 基础饲粮营养水平测定

饲粮代谢能为计算值,参考《中国饲料成分及营养价值表(2017年第28版)》<sup>[8]</sup>中各原料的代谢能值,根据 NRC(2007)绵羊营养需要量,通过各原料组成比例进行计算。粗蛋白质含量的测定使用凯氏定氮法,参考 GB/T 6432—1994 方法进行<sup>[9]</sup>。钙含量的测定使用乙二胺四乙酸二钠络合滴定法,参考 GB/T 6436—2002 方法进行<sup>[10]</sup>。磷含量的测定使用分光光度法,参考 GB/T 6437—2002 方法,应用紫外分光光度计进行<sup>[11]</sup>。中性洗

涤纤维(NDF)含量的测定使用范氏法,参考 GB/T 20806—2006,应用全自动纤维分析仪进行<sup>[12]</sup>。非纤维性碳水化合物(NFC)为计算值,公式为:

$$\text{非纤维性碳水化合物} = 100 - (\text{粗蛋白质} + \text{粗脂肪} + \text{中性洗涤纤维} + \text{粗灰分})^{[13]}$$

### 1.4.2 肝脏糖异生关键基因 mRNA 表达量的测定

特异性引物根据 GenBank 公布的引物序列并利用 Primer 5.0 进行设计,由宝生物工程(大连)有限公司进行合成并验证,引物信息见表 2。

表 2 引物信息

Table 2 Primer information

基因 Genes	引物序列 Primer sequence (5'—3')	产物长度 Product length/bp	GenBank 登录号 GenBank accession number	退火温度 Annealing temperature/°C
葡萄糖-6-磷酸酶 G6P	F: TGTTGTGGTTGGGATTCTGG R: CTCTGGATGTGGCGGAAAG	139	EF062861	60
丙酮酸羧化酶 PC	F: CCCATCCTCACCATCATCAC R: GCACAAACACGCACCTCAA	3 929	XM_018043144.1	60
磷酸烯醇丙酮酸羧激酶 PEPCK	F: GGGAGGAGGAGGTGGAAGAA R: GGTGCGTTGTATGGATTGGAG	159	XM_004014441	60

采用 Trizol(Invitrogen 公司,美国)法进行肝脏组织总 RNA 的提取,具体方法参照 Simms 等<sup>[14]</sup>。经酶标仪上测定吸光度(OD)<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub> 的值分布在 1.8~2.2,经 2.0% 琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 完整性。利用 PrimeScript RT reagent Kit (TaKaRa, 编号: DRR036A) 试剂盒说明书进行反转录,反应条件为: 37 °C 15 min, 85 °C 5 s。利用实时荧光定量 PCR 方法检测肝脏组织样品各项基因的 mRNA 表达量,反应程序如下: 95 °C 预变性 30 s, 95 °C 变性 30 s, 60 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 20 s, 进行 40 个循环反应; 70 °C 0.06 s, 51 个循环, 绘制熔解曲线。以 β-肌动蛋白(β-actin)为内参,采用 2<sup>-ΔΔCt</sup> 法计算目的基因 mRNA 表达量。

### 1.4.3 肝脏糖异生关键基因蛋白质表达量的测定

取 100 mg 肝脏组织样品,以 β-actin 为内参采用蛋白质印迹法(Western blot)检测肝脏中 PEPCK、PC 和 G6P 的蛋白质表达量。将总蛋白质样品 60 μg 与 5×蛋白质凝胶电泳上样缓冲液按照 4:1 的体积比轻轻混合,95 °C 变性 10 min。将样品加至凝胶点样孔中,接通电泳仪电源,将电压调至

80 V, 30 min, 使样品完全通过。电泳结束后,将分离的蛋白质转移到 PVDF 膜上 100 V, 4 °C, 5 min。转膜后,吐温-Tris 缓冲盐溶液(TBST)漂洗 3 次, 5 min/次,室温摇床上封闭 1 h, TBST 漂洗 3 次, 5 min/次。然后一抗加入 PVDF 膜中, 4 °C 反应过夜,将反应膜用 TBST 洗涤 3 次, 10 min/次。加入适宜比例二抗作用 1 h, TBST 洗 PVDF 膜 3 次, 5 min/次。将化学发光(ECL)试剂盒中 A、B 液按 1:1 体积比混合并均匀加在 PVDF 膜表面,避光 4 min, 成像。

## 1.5 数据统计分析

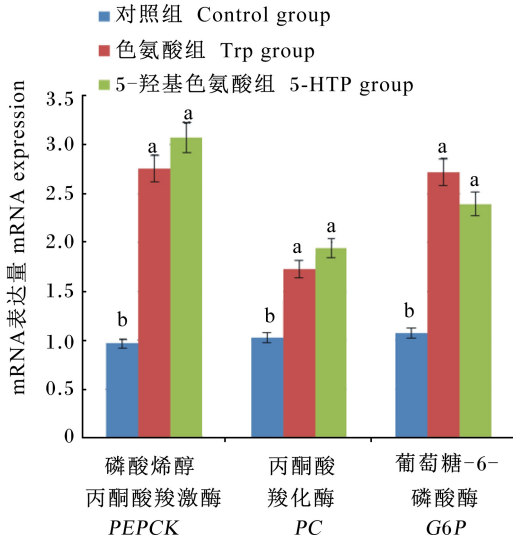
试验有关数据采用 Excel 2010 进行计算和绘图,并采用 SAS 9.2 进行单因素方差分析。P < 0.05 表示差异显著。

## 2 结果

### 2.1 5-HT 前体物对围产期母羊肝脏糖异生关键基因 mRNA 表达量的影响

5-HT 前体物对围产期母羊肝脏糖异生关键基因 mRNA 表达量的影响见图 1。在产后第 9 天,

5-HTP组和 Trp 组的肝脏 *PEPCK*、*PC* 和 *G6P* 的 mRNA 表达量均显著高于对照组 ( $P < 0.05$ ), Trp 组与 5-HTP 组之间差异不显著 ( $P > 0.05$ ), 但 5-HTP 组的肝脏 *PEPCK* 和 *PC* 的 mRNA 表达量略高于 Trp 组, 5-HTP 组的肝脏 *G6P* 的 mRNA 表达量略低于 Trp 组。



数据柱标相同小写字母表示差异不显著 ( $P > 0.05$ ), 不同小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ )。下图同。

Value columns with the same small letter mean no significant difference ( $P > 0.05$ ), while with different small letters mean significant difference ( $P < 0.05$ ). The same as below.

图 1 5-HT 前体物对围产期母羊肝脏糖异生关键基因 mRNA 表达量的影响

Fig.1 Effects of 5-HT precursor on mRNA expressions of liver gluconeogenesis key genes of perinatal ewes

## 2.2 5-HT 前体物对围产期母羊肝脏糖异生关键基因蛋白质表达量的影响

5-HT 前体物对围产期母羊肝脏糖异生关键基因蛋白质表达量的影响见图 2 和图 3。5-HTP 组和 Trp 组的肝脏 *PEPCK*、*PC* 和 *G6P* 的蛋白质表达量均显著高于对照组 ( $P < 0.05$ ); Trp 组的肝脏 *PEPCK* 的蛋白质表达量显著低于 5-HTP 组 ( $P < 0.05$ ); Trp 组的肝脏 *PC* 的蛋白质表达量高于 5-HTP 组, 但差异不显著 ( $P > 0.05$ ); Trp 组的肝脏 *G6P* 的蛋白质表达量显著高于 5-HTP 组 ( $P < 0.05$ )。

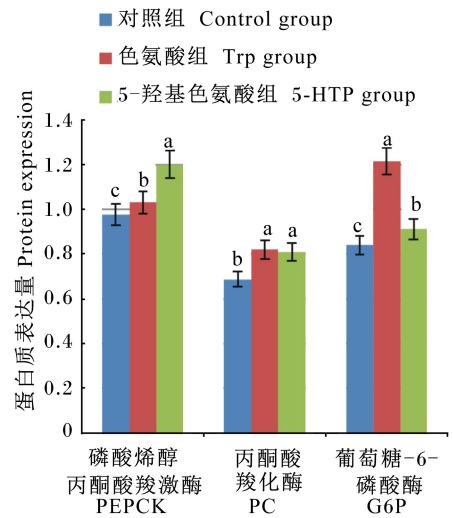


图 2 5-HT 前体物对围产期母羊肝脏糖异生关键基因蛋白质表达量的影响

Fig.2 Effects of 5-HT precursor on protein expressions of liver glycosylation key genes of perinatal ewes

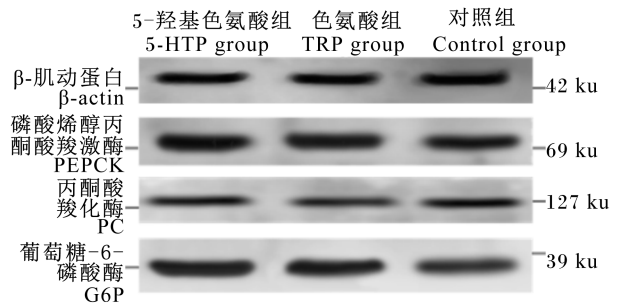


图 3 各组围产期母羊肝脏糖异生关键基因蛋白质免疫印迹图

Fig.3 Western blot picture of liver glycosylation key gene protein of perinatal ewes in each group

## 3 讨论

围产期是反刍母畜繁殖周期内内分泌和代谢变化最为显著的时期。大多数反刍母畜都会经历一定程度的负能量平衡、胰岛素抵抗、饲料摄入量和能量供应减少以及免疫抑制<sup>[14-16]</sup>。母体组织,特别是肝脏、乳腺和骨骼,都经历了许多适应过程来支持分娩和乳的合成<sup>[17]</sup>,这对母畜维持体内平衡的能力造成了极大的压力。此时,母畜极易受到各种疾病或代谢紊乱的影响,这些疾病或代谢紊乱会对母畜的健康产生负面影响,进而影响其整体生产性能,造成重大的经济损失<sup>[18]</sup>。葡萄糖为母羊围产期提供主要的能量来源,80%以上的葡

葡萄糖供给是由肝脏糖异生提供的<sup>[19]</sup>。肝脏糖异生作用主要是在各种关键酶的作用下将非糖前体物合成葡萄糖<sup>[20]</sup>。在肝脏糖异生过程中,PC、PEPCK和G6P是这一过程中的3个关键限速酶,它们的活性可直接反映机体糖异生的作用程度<sup>[4]</sup>。本试验结果表明,5-HTP组和Trp组的肝脏糖异生关键基因PEPCK、G6P和PC的mRNA表达量显著高于对照组。这说明在肝脏糖异生过程中,5-HT前体物的灌注显著提升了肝脏糖异生关键限速酶基因的表达,增加了PEPCK、G6P和PC的活性,促进了非糖前体物合成葡萄糖。

Laporta等<sup>[21]</sup>的研究报道也表明,给小鼠饲喂5-HTP可诱导肝脏PC的表达,PC在葡萄糖异生途径中催化丙酮酸羧化生成草酰乙酸,PEPCK将草酰乙酸转化为磷酸烯醇丙酮酸。在饲喂5-HTP小鼠的肝脏中,PC和PEPCK的mRNA表达量增加,表明5-HT可能通过调节这些酶来调控糖异生。同时,从肝脏糖异生关键基因mRNA和蛋白质表达量来看,5-HTP组和Trp组之间的差异性规律并不完全一致,说明灌注的5-HT前体物不同,对于肝脏糖异生作用限速酶关键基因的影响在转录水平和翻译水平上有差别的。但从总体来看,5-HT前体物对于肝脏糖异生作用限速酶关键基因的影响是显著的。

Laporta等<sup>[21]</sup>的研究还显示,5-HTP组和L-Trp组之间的血液葡萄糖含量存在差异,添加L-Trp不仅增加糖异生酶的基因表达,糖酵解的关键酶磷酸果糖激酶(PFK)的mRNA表达量也升高,小鼠的血液葡萄糖含量显著降低,因此添加L-Trp可能还加速了糖酵解。本试验主要测定了与糖异生相关的基因表达,并没有测定与糖酵解相关的基因表达。同时,Watanabe等<sup>[22]</sup>研究表明,小鼠腹腔注射5-HT后,血浆胰岛素浓度升高。然而,5-HT不仅导致高胰岛素血症,同时还导致高血糖症,但没有引起肝脏和骨骼肌糖原浓度的变化。因此推论,5-HT有2种不同的葡萄糖代谢作用:一种是在胰腺B细胞中引起胰岛素分泌的直接诱导作用,另一种是在组织中抑制肝脏和骨骼肌以外的组织从血液中摄取葡萄糖。因此,5-HT前体物对于机体葡萄糖代谢的作用方式及机制还有待于进一步研究。

## 4 结论

① 灌注5-HT前体物可使产后第9天母羊的肝脏糖异生关键基因PEPCK、G6P和PC的mRNA表达量显著升高,起到了促进肝脏糖异生的作用。

② 灌注5-HT前体物可使产后第9天母羊的肝脏糖异生关键基因PEPCK、G6P和PC的蛋白质表达量显著升高,说明5-HT前体物不仅在转录水平,也在翻译水平起到促进肝脏糖异生的作用。

## 参考文献:

- [1] BERGMAN E N, BROCKMAN R P, KAUFMAN C F. Glucose metabolism in ruminants: comparison of whole-body turnover with production by gut, liver, and kidneys [J]. Federation Proceedings, 1974, 33 (7): 1849-1854.
- [2] REYNOLDS C K, HUNTINGTON G B, TYRRELL H F, et al. Net portal-drained visceral and hepatic metabolism of glucose, L-lactate, and nitrogenous compounds in lactating holstein cows [J]. Journal of Dairy Science, 1988, 71 (7): 1803-1812.
- [3] YOUNG J W. Gluconeogenesis in cattle: significance and methodology [J]. Journal of Dairy Science, 1977, 60 (1): 1-15.
- [4] AGCA C, GREENFIELD R B, HARTWELL J R, et al. Cloning and characterization of bovine cytosolic and mitochondrial PEPCK during transition to lactation [J]. Physiological Genomics, 2002, 11 (2): 53-63.
- [5] LAPORTA J, PETERS T L, MERRIMAN K E, et al. Serotonin (5-HT) affects expression of liver metabolic enzymes and mammary gland glucose transporters during the transition from pregnancy to lactation [J]. PLoS One, 2013, 8 (2): e57847.
- [6] ZABALA M T, LORENZO P, LVAREZ L A, et al. Serotonin increases the cAMP concentration and the phosphoenolpyruvate carboxykinase mRNA in rat kidney, small intestine, and liver [J]. Cellular Physiology, 1992, 150 (3): 451-455.
- [7] LAPORTA J, MOORE S A E, WEAVER S R, et al. Increasing serotonin concentrations alter calcium and energy metabolism in dairy cows [J]. Journal of Endocrinology, 2015, 226 (1): 43-55.
- [8] 中国饲料数据库. 中国饲料成分及营养价值表 (2018年第29版) [J]. 中国饲料, 2018 (21): 64-73.

- [ 9 ] 国家技术监督局.GB/T 6432—1994 饲料中粗蛋白测定方法[ S ].北京:中国标准出版社,1994.
- [ 10 ] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局.GB/T 6436—2002 饲料中钙的测定[ S ].北京:中国标准出版社,2002.
- [ 11 ] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局.GB/T 6437—2002 饲料中总磷的测定 分光光度法[ S ].北京:中国标准出版社,2002.
- [ 12 ] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局,中国国家标准化管理委员会.GB/T 20806—2006 饲料中中性洗涤纤维(NDF)的测定[ S ].北京:中国标准出版社,2007.
- [ 13 ] 艳城,孙海洲,李胜利,等.不同品种苜蓿蛋白质和碳水化合物组分、体外降解率及能值评定[ J ].中国奶牛,2015(5):5-10.
- [ 14 ] SIMMS D, CIZDZIEL P E, CHOMCZYNSKI P. Trizol<sup>TM</sup>: a new reagent for optimal single-step isolation of RNA[ J ].Focus, 1993, 15(4):532-535.
- [ 15 ] DRACKLEY J K. Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier? [ J ]. Journal of Dairy Science, 1999, 82(11):2259-2273.
- [ 16 ] LEBLANC S. Monitoring metabolic health of dairy cattle in the transition period[ J ]. Journal of Reproduction and Development, 2010, 56( Suppl.1 ):S29-S35.
- [ 17 ] KOVACS C S, KRONENBERG H M. Maternal-fetal calcium and bone metabolism during pregnancy, puerperium, and lactation[ J ]. Endocrine Reviews, 1997, 18(6):832-872.
- [ 18 ] ERB H N, SMITH R D, OLTENACU P A, et al. Path model of reproductive disorders and performance, milk fever, mastitis, milk yield, and culling in holstein cows [ J ]. Journal of Dairy Science, 1985, 68(12):3337-3349.
- [ 19 ] ASCHENBACH J R, KRISTENSEN N B, DONKIN S S, et al. Gluconeogenesis in dairy cows: the secret of making sweet milk from sour dough[ J ] IUBMB Life, 2010, 62(12):869-877.
- [ 20 ] ARMENTANO L E. Ruminant hepatic metabolism of volatile fatty acids, lactate and pyruvate[ J ]. The Journal of Nutrition, 1992, 122( Suppl.3 ):838-842.
- [ 21 ] LAPORTA J. The role of serotonin in calcium and energy homeostasis; new opportunities for the management of transition-related metabolic disorders[ D ]. Ph. D. Thesis. Madison, USA: University of Wisconsin in Madison, 2014.
- [ 22 ] WATANABE H, AKASAKA D, OGASAWARA H, et al. Peripheral serotonin enhances lipid metabolism by accelerating bile acid turnover[ J ]. Endocrinology, 2010, 151(10):4776-4786.

## Effects of Serotonin Precursor on mRNA and Protein Expressions of Liver Gluconeogenesis Key Genes of Perinatal Ewes

SANG Dan<sup>1,2</sup> NAMIRGA<sup>1,2</sup> SUN Haizhou<sup>2\*</sup> JIN Lu<sup>2</sup> ZHANG Chongzhi<sup>2</sup>  
ZHANG Chunhua<sup>2</sup> RU Ting<sup>1,2</sup> JIA Chunlei<sup>3</sup> AO Changjin<sup>1\*</sup>

(1. College of Animal Science, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010018, China; 2. Animal Nutrition and Feed Research Institution of Inner Mongolia Academy of Agriculture and Animal Husbandry Academy, Hohhot 010031, China; 3. Urat Front Banner Livestock Improvement Station, Bayannur 014400, China)

**Abstract:** This study was conducted to investigate the effects of serotonin (5-HT) precursor on mRNA and protein expressions of liver gluconeogenesis key genes of perinatal ewes. Thirty good body condition Bamei ewes with a body weight of (64.52±4.11) kg in the same perinatal period were randomly divided into 3 groups according to their body weight, which were control group, 5-hydroxy-tryptophan (5-HTP) group (perfused 5-HTP) and tryptophan (Trp) group (perfused Trp), respectively, each group contained 10 ewes. Ewes jugular vein perfusion was conducted from prenatal day 7 to postpartum day 0, the perfusion dose of 5-HTP and Trp was 0.178 mg/kg BW, and the concentration was 0.1 mg/mL; the control group was perfused with the same dose of saline. The experiment lasted from prenatal day 7 to postpartum day 30. The results showed as follows: 1) the mRNA expressions of phosphoenolpyruvate carboxykinase (PEPCK), glucose-6-phosphatase (G6P) and pyruvate carboxylase (PC) in liver of 5-HTP group and Trp group were significantly higher than those of the control group ( $P<0.05$ ). 2) The protein expressions of PEPCK, G6P and PC in liver of 5-HTP group and Trp group were significantly higher than those of the control group ( $P<0.05$ ), the liver PEPCK protein expression of Trp group was significantly lower than that of 5-HTP group ( $P<0.05$ ), and the liver G6P protein expression of Trp group was significantly higher than that of 5-HTP group ( $P<0.05$ ). In conclusion, 5-HT precursor plays a role in promoting the liver gluconeogenesis not only at the transcriptional level, but also at the translation level. [*Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2019, 31(11):5214-5220]

**Key words:** serotonin precursor; liver gluconeogenesis; perinatal period; ewes

\* Corresponding authors: SUN Haizhou, professor, E-mail: sunhaizhou@china.com; AO Changjin, professor, E-mail: changjiniao@aliyun.com

(责任编辑 武海龙)