



陈标, 焦彩红, 朱选, 等. 谷胱甘肽对奥尼罗非鱼原代肝细胞增殖及生化功能的影响[J]. 华南农业大学学报, 2017, 38(5): 7-12.

谷胱甘肽对奥尼罗非鱼原代肝细胞增殖及生化功能的影响

陈 标¹, 焦彩红¹, 朱 选², 潘 庆¹

(1 华南农业大学 海洋学院, 广东 广州 510642; 2 海大集团, 广东 广州 511400)

摘要:【目的】研究谷胱甘肽(Glutathione, GSH)对奥尼罗非鱼 *Oreochromis niloticus*×*O. aureus* 原代肝细胞增殖和生化功能的影响, 探究谷胱甘肽的促生长作用机制。【方法】用添加 ϕ 为 10% 胎牛血清和未添加血清的培养液培养奥尼罗非鱼原代肝细胞 48 h, 随后在培养液中分别加 GSH 至 0、30、100、300、900 mg·L⁻¹, 每个水平设 6 个重复, 培养 24、48 和 72 h 后测定奥尼罗非鱼原代肝细胞增殖情况及培养液中胰岛素样生长因子、白蛋白、过氧化氢含量和谷草转氨酶、 γ -谷氨酰转肽酶活性。【结果】谷胱甘肽显著促进了奥尼罗非鱼原代肝细胞增殖, 提高了培养液上清中胰岛素样生长因子、白蛋白的含量和 γ -谷氨酰转肽酶活性, 降低了培养液上清中过氧化氢含量和谷草转氨酶活性($P<0.05$)。在无血清培养试验组中添加谷胱甘肽, 对奥尼罗非鱼原代肝细胞增殖及生化指标的影响比添加血清培养试验组效果明显。【结论】谷胱甘肽能促进奥尼罗非鱼肝细胞增殖, 且具有保护肝脏的作用。

关键词: 谷胱甘肽; 奥尼罗非鱼; 原代肝细胞; 增殖; 生化功能
中图分类号: S963.73 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-411X(2017)05-0007-06

Effects of glutathione on proliferation and biochemical function of primary hepatocyte in hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus*×*O. aureus*)

CHEN Biao¹, JIAO Caihong¹, ZHU Xuan², PAN Qing¹

(1 College of Marine Sciences, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China;
2 Haid Group, Guangzhou 511400, China)

Abstract: 【Objective】To investigate the effects of glutathione (GSH) on proliferation and biochemical function of primary hepatocyte in hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus*×*O. aureus*). 【Method】Tilapia primary hepatocytes were cultured in cell culture medium with 0 or 10% fetal calf serum for 48 h. GSH was then added into the two kinds of cell culture medium to the final concentration of 0, 30, 100, 300 or 900 mg·L⁻¹ respectively. Each concentration group had six replicates. The proliferation status of the primary hepatocyte, contents of insulin-like growth factor 1 (IGF-1), albumin and H₂O₂, as well as glutamate-oxaloacetate transaminase (GOT) and γ -glutamyl transpeptidase (γ -GT) activities of tilapia were detected after cultured for 24, 48 and 72 h, respectively. 【Result】GSH significantly increased the proliferation of primary hepatocyte, the contents of IGF-1 and albumin, and γ -GT activity in supernatant, while reduced H₂O₂ content and GOT activity($P<0.05$). Such effects of GSH were more evident in the group without fetal calf serum compared to the group with 10% fetal calf serum. 【Conclusion】GSH could enhance the proliferation of primary hepatocyte and has the function of protecting liver in hybrid tilapia.

Key words: glutathione; *Oreochromis niloticus*×*O. aureus*; primary hepatocyte; proliferation; biochemical function

谷胱甘肽(Glutathione, GSH)主要是在肝脏以谷氨酸、半胱氨酸和甘氨酸为底物合成^[1], 广泛分布于所有生物细胞中, 其中, 动物的肝脏、肾脏含量较为丰富^[2]。GSH 具有保护机体酶蛋白巯基不被氧化, 促进自由基清除, 减少自由基对细胞损伤, 调节机体免疫机能等作用^[3]。GSH 作为药物已广泛应用于人类医疗^[4], 作为功能性食品添加剂及营养强化剂用于食品生产^[5]。

有研究表明, 在草鱼饲料中添加 GSH 能够增强生长激素活性, 促进草鱼生长^[6]。在凡纳滨对虾饲料中添加 GSH 能够提高对虾成活率和饲料转化率^[7]。在吉富罗非鱼饲料中添加 GSH 能够促进生长激素的分泌、蛋白质合成和细胞增殖^[8], 提高生长性能和免疫相关酶活性^[9]。在奥尼罗非鱼 *Oreochromis niloticus*×*O. aureus* 饲料中添加 GSH 能促进幼鱼生长, 提高饲料利用率, 促进 IGF-I 和 T3 分泌, 提高机体抗氧化能力^[10]。目前, 鲜见在细胞水平上探讨谷胱甘肽的作用及其机理, 通过细胞水平的研究, 将从不同层面和水平揭示 GSH 作用机理。因此, 本试验通过奥尼罗非鱼肝脏原代细胞培养, 研究 GSH 对细胞增殖的影响, 初步揭示 GSH 的促生长作用机理, 为 GSH 在水产动物饲料中应用提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验鱼和主要试剂

奥尼罗非鱼购自广州白云区鱼苗厂, 体质量约为 30 g, 鱼体消毒后在水族箱中暂养 3 周, 备细胞培养用, 暂养期间投喂不添加 GSH 的纯化饲料, 饲料配方的质量分数为: 干酪素 35%、马铃薯淀粉 45%、玉米油 5%、微晶纤维素 5%、羧甲基纤维素钠 2%、矿物质预混物 5%、维生素预混物 3%。谷胱甘肽购自 AMRESCO 公司($\varphi \geq 99\%$)。DMEM/F12 培养液和 II 型胶原酶干粉购自 GIBCO 公司。

1.2 肝细胞原代培养

罗非鱼用 φ 为 0.01% 的高锰酸钾溶液消毒 0.5 h 取出毁髓, φ 为 70% 的酒精消毒鱼体后移入超净工作台。用已消毒好的手术剪剪开罗非鱼一侧腹腔, 小心取出肝脏, 用预冷的 DMEM/F12 培养液清洗 3 次, 将肝组织剪成约 1 mm³ 左右的组织块, 清洗 3 次后转入含有 φ 为 0.05% 胶原酶的培养瓶中, 26 ℃ 水浴中消化 10 min, 充分吹打, 200 目滤网过滤去除碎块, 1 500 r·min⁻¹ 冷冻离心 2 min, 收集肝细胞, 再以 900 r·min⁻¹ 冷冻离心 2 min 以去除混杂在肝细胞中的杂细胞。细胞以 DMEM/F12 培养液重悬后, 计

数细胞密度, 使其达到 5×10⁵ 个·mL⁻¹, 随后接种于多个 24 孔细胞培养板(美国 Corning), 在 φ (CO₂)为 5% 的 26 ℃ 培养箱中培养。

1.3 GSH 处理

肝细胞培养 48 h 后, 吸出培养液并用 Hank 氏液清洗, 分别加入含有 φ 为 10% 胎牛血清和不含胎牛血清的 DMEM/F12 培养液, 在 2 种培养液中加入 GSH, 使其终质量浓度为 30、100、300 和 900 mg·L⁻¹, 不加入 GSH 组为对照组, 每个水平设 6 个重复。在培养 24、48 和 72 h 后, 分别测定肝细胞的增殖情况, 随后以 1 800 r·min⁻¹ 离心 5 min, 取培养液上清, 分装于 0.5 mL 的离心管中, 保存于-20 ℃ 冰箱中以备分析。

1.4 测定方法

肝细胞的增殖采用 MTT 法^[11]测定, 测得的光密度($D_{490\text{ nm}}$)与活细胞的数目具有良好的相关性; IGF-1 的测定采用放射免疫测定法, 样品的前处理采用酸醇提取法^[12], 具体操作参照测定试剂盒(天津九鼎医学生物工程公司)说明书进行。由于测定试剂盒为人医研制, 硬骨鱼类的和人类的 IGF-1 氨基酸序列有近 80% 的相似性^[13], 因此, 经逐级稀释罗非鱼血清样品后测定 IGF-1 含量, 得出血清浓度与样品 IGF-1 含量的回归方程为: $y=0.122x-1.921\ 6$, $R^2=0.958\ 9$, 确定该试剂盒可用于测定罗非鱼样品 IGF-1 的含量。上清液中白蛋白含量测定采用溴甲酚绿比色法, 谷草转氨酶(Glutamate-oxaloacetate transaminase, GOT)活性测定采用赖氏法, γ -谷氨酰转肽酶(γ -glutamyl transpeptidase, γ -GT)和过氧化氢含量均采用试剂盒测定(南京建成生物工程研究所)。谷草转氨酶和 γ -谷氨酰转肽酶活性用 U 表示, 其代表 1 分钟内转化 1 μ mol 底物所需的酶量。

1.5 数据统计分析

采用 SPSS20.0 统计软件对数据进行统计和方差分析。数据采用平均数±标准误表示, 组间数据经方差分析后有显著差异再做 Duncan's 多重比较。

2 结果与分析

2.1 罗非鱼肝细胞的形态

无血清培养条件下, 培养 24 和 48 h 后经 GSH 处理的肝细胞生长情况比未经 GSH 处理的细胞折光性好, 但各处理组间肝细胞形态没有明显差别。在 72 h 后添加 900 mg·L⁻¹GSH 的肝细胞生长状况最好, 未见细胞连成网状及从培养板底部脱落的现象, 而此时对照组有大量细胞从培养板底部脱落。

添加血清培养条件下,肝细胞在各时间段生长情况良好,组间形态差别不明显。

2.2 罗非鱼肝细胞的增殖

如表 1 所示,无血清培养条件下,在培养 24、48 和 72 h 后,经GSH 处理的肝细胞增殖均显著高于对照组($P<0.05$);在 72 h 后,随着 GSH 的加入量增

加, $D_{490\text{ nm}}$ 显著增加,且各处理组间均有显著差异。添加血清培养条件下,在 24 h 后添加 300、900 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ GSH 组肝细胞增殖显著高于其他各组,在 48 h 后添加 300 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ GSH 组肝细胞增殖显著高于其他各组,在 72 h 后添加 300、900 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ GSH 组肝细胞增殖显著高于对照组。

表 1 不同培养时间罗非鱼肝细胞培养液的光密度($D_{490\text{ nm}}$)¹⁾
Tab. 1 $D_{490\text{ nm}}$ value of tilapia hepatocyte culture after culturing for different time

培养条件	$\rho(\text{GSH})/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	24 h	48 h	72 h
无血清	0(对照)	0.032±0.001a	0.048±0.002a	0.025±0.001a
	30	0.047±0.001b	0.079±0.002bc	0.032±0.002b
	100	0.053±0.003b	0.083±0.003c	0.041±0.001c
	300	0.054±0.001b	0.084±0.005c	0.052±0.003d
	900	0.053±0.005b	0.070±0.004b	0.062±0.002e
有血清	0(对照)	0.040±0.004a	0.077±0.001a	0.079±0.002a
	30	0.050±0.004a	0.079±0.001a	0.082±0.002ab
	100	0.051±0.004a	0.080±0.001a	0.084±0.002ab
	300	0.068±0.007b	0.085±0.001b	0.088±0.001b
	900	0.068±0.006b	0.078±0.001a	0.087±0.002b

1) 相同培养条件、同列数据后凡具有一个相同小写字母者,表示差异不显著($P>0.05$, Duncan’s 法)。

2.3 肝细胞培养液中 H_2O_2 含量

如表 2 所示,无血清培养条件下,在培养 24、48 和 72 h 后经 GSH 处理的肝细胞培养液中 H_2O_2 含量显著低于对照组。添加血清培养条件下,在 24 h

后添加 100、300 和 900 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ GSH 组中 H_2O_2 含量显著低于对照组,在 48 和 72 h 后,各处理组肝细胞培养液中 H_2O_2 含量无显著差异($P>0.05$)。

表 2 不同培养时间肝细胞培养液中 H_2O_2 的含量¹⁾
Tab. 2 H_2O_2 content in hepatocyte culture after culturing for different time

培养条件	$\rho(\text{GSH})/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	24 h	48 h	72 h
无血清	0(对照)	12.00±0.00c	11.83±0.17c	14.00±1.12b
	30	10.67±0.33b	11.17±0.30b	11.33±0.33a
	100	10.50±0.22b	10.67±0.21ab	10.33±0.21a
	300	10.33±0.33ab	10.50±0.22ab	10.17±0.17a
	900	9.67±0.21a	10.33±0.21a	11.17±0.17a
有血清	0(对照)	13.00±0.52b	12.00±0.36a	12.33±0.88a
	30	11.83±0.17ab	11.83±0.17a	12.00±0.58a
	100	11.33±0.21a	11.17±0.31a	11.33±0.33a
	300	11.33±0.67a	11.17±0.48a	11.33±0.33a
	900	11.50±0.43a	11.17±0.31a	10.67±0.33a

1) 相同培养条件、同列数据后凡具有一个相同小写字母者,表示差异不显著($P>0.05$, Duncan’s 法)。

2.4 肝细胞培养液中 IGF-1 含量

如表 3 所示,无血清培养条件下,在培养 24 h 后添加 100 和 300 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ GSH 组中 IGF-1 含量显
<http://xuebao.scau.edu.cn>

著高于对照组,在 48 h 后添加 300 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ GSH 组中 IGF-1 含量显著高于各处理组,在 72 h 后添加 900 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ GSH 组中 IGF-1 含量显著高于对照组。

添加血清培养条件下,在 24 h 后添加 100、300 和 900 mg·L⁻¹ GSH 组中 IGF-1 含量显著高于对照组,在 48 和 72 h 后添加 300、900 mg·L⁻¹ GSH 组中 IGF-1 含量均显著高于对照组。随着培养时间延续,各处理组培养液中 IGF-1 含量呈现升高的趋势。

表 3 不同培养时间肝细胞培养液中 IGF-1 含量 ¹⁾				
Tab. 3 IGF-1 content in hepatocyte culture after culturing for different time				ng·mL ⁻¹
培养条件	$\rho(\text{GSH})/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	24 h	48 h	72 h
无血清	0(对照)	41.00±3.17a	40.86±1.96a	39.76±2.19a
	30	44.91±2.95ab	43.65±2.65a	41.40±0.59ab
	100	50.82±2.06bc	45.74±1.75a	42.70±3.14ab
	300	53.58±1.55c	56.59±3.16b	44.58±0.97ab
	900	47.57±1.79abc	44.32±0.98a	47.97±3.41b
有血清	0(对照)	41.57±3.16a	51.49±1.99a	56.44±1.31a
	30	48.40±2.78ab	53.87±1.44ab	61.25±6.73ab
	100	57.08±2.12bc	55.56±1.48abc	62.78±1.74ab
	300	65.66±4.65c	63.02±5.03c	73.40±3.35b
	900	59.85±4.96c	60.28±1.68bc	72.42±3.67b

1) 相同培养条件、同列数据后凡具有一个相同小写字母者,表示差异不显著($P>0.05$, Duncan's 法)。

2.5 肝细胞培养液中白蛋白的含量

如表 4 所示,无血清培养条件下,在培养 24 h 后经 GSH 处理的各处理组间白蛋白含量无显著差异,在 48 h 后 300 mg·L⁻¹ 组中白蛋白含量显著高于对照组,在 72 h 后添加 300 和 900 mg·L⁻¹ GSH 组中白蛋白含量显著高于其他各组。添加血清培养条件下,在 24 和 72 h 后经 GSH 处理的各组间白蛋白含量无显著差异,在 48 h 后添加 100 和 300 mg·L⁻¹ GSH 组中白蛋白含量显著高于其他各组。添加血清培养肝细胞培养液中白蛋白的含量明显高于无添加血清培养肝细胞培养液中白蛋白的含量。

表 4 不同培养时间肝细胞培养液中白蛋白含量 ¹⁾				
Tab. 4 Albumin content in hepatocyte culture after culturing for different time				mg·mL ⁻¹
培养条件	$\rho(\text{GSH})/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	24 h	48 h	72 h
无血清	0(对照)	0.155±0.022a	0.298±0.022a	0.171±0.017a
	30	0.162±0.021a	0.325±0.027ab	0.172±0.011a
	100	0.176±0.020a	0.350±0.041ab	0.177±0.018a
	300	0.174±0.022a	0.368±0.061b	0.239±0.021b
	900	0.165±0.013a	0.315±0.050ab	0.273±0.043c
有血清	0(对照)	4.10±0.18a	6.74±0.62a	6.35±0.52a
	30	4.68±0.74a	6.95±0.82a	7.46±0.54a
	100	5.46±0.96a	8.42±0.45b	7.60±1.30a
	300	5.49±1.13a	8.07±0.71b	7.49±0.54a
	900	5.11±0.63a	6.76±1.28a	7.32±0.67a

1) 相同培养条件、同列数据后凡具有一个相同小写字母者,表示差异不显著($P>0.05$, Duncan's 法)。

2.6 肝细胞培养液中 γ -GT 活性

如表 5 所示,无血清培养条件下,在培养 24 和 48 h 后添加 100、300 和 900 mg·L⁻¹ GSH 组中 γ -GT 活性显著高于对照组和添加 30 mg·L⁻¹ GSH 组,在 72 h 后添加 300 和 900 mg·L⁻¹ GSH 组中 γ -GT 活性显著高于对照组。添加血清培养条件下,在 48 h 后添加 300 mg·L⁻¹ GSH 组中 γ -GT 活性显著高于对照组。

表 5 不同培养时间肝细胞培养液中 γ -GT 的活性¹⁾

Tab. 5 γ -GT activity in hepatocyte culture after culturing for different time

U·mL⁻¹

培养条件	$\rho(\text{GSH})/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	24 h	48 h	72 h
无血清	0(对照)	51.17±0.40a	52.00±0.52a	50.33±1.02a
	30	53.33±0.99ab	53.00±0.52a	52.50±1.02ab
	100	55.00±1.37b	56.50±0.50b	52.83±0.40ab
	300	58.50±0.92c	57.33±1.11b	53.83±1.42b
	900	59.17±1.11c	57.50±0.92b	54.50±0.62b
有血清	0(对照)	56.67±0.61a	53.83±1.42a	54.67±0.33a
	30	56.67±0.95a	56.67±1.12ab	54.67±0.33a
	100	57.50±0.88a	56.67±1.38ab	55.33±0.88a
	300	58.00±0.68a	57.83±0.60b	56.67±1.67a
	900	59.50±1.43a	57.00±0.45ab	57.00±1.54a

1) 相同培养条件、同列数据后凡具有一个相同小写字母者,表示差异不显著($P>0.05$, Duncan's 法)。

2.7 肝细胞培养液中 GOT 活性

经 GSH 处理的试验组各阶段 GOT 活性均随 GSH 增加而下降。

如表 6 所示,无血清和添加血清培养条件下,

表 6 不同培养时间肝细胞培养液中 GOT 的活性¹⁾

Tab. 6 GOT activity in hepatocyte culture after culturing for different time

U·mL⁻¹

培养条件	$\rho(\text{GSH})/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	24 h	48 h	72 h
无血清	0(对照)	13.17±0.55c	11.87±0.93c	11.00±0.63c
	30	11.51±0.52b	9.26±0.66b	9.97±0.40bc
	100	10.95±0.58b	8.92±0.80b	8.92±0.69ab
	300	10.95±0.57b	8.27±0.71b	8.61±0.41ab
	900	8.10±0.52a	4.64±0.39a	7.12±0.74a
有血清	0(对照)	19.61±0.88c	15.08±0.60b	13.20±0.85b
	30	19.52±1.31c	14.94±0.83ab	12.69±1.18b
	100	18.61±0.76bc	13.86±0.86ab	11.70±1.28b
	300	15.17±0.62ab	13.46±0.77ab	10.27±1.39ab
	900	14.49±1.43a	12.54±0.78a	7.343±0.48a

1) 相同培养条件、同列数据后凡具有一个相同小写字母者,表示差异不显著($P>0.05$, Duncan's 法)。

3 讨论与结论

3.1 GSH 对体外培养罗非鱼肝细胞增殖的影响

GSH 具有促进有丝分裂和调控细胞增殖的作用^[14], 并可以清除细胞内过多的 H_2O_2 , 调控自由基水平, 间接影响 DNA 合成^[15-17]。有研究表明, 上皮纤维细胞(GM0868)培养液中加入 GSH 合成抑制剂能够降低上皮纤维细胞增殖, 而加入 GSH 的前体物(氧化四氢噻唑羧基盐)能降低细胞自由基水平, 促进上皮纤维细胞增殖^[15]。本试验中, 为排除血清中所含 GSH 的干扰, 设置添加血清和未添加血清试验组, 分析结果显示 GSH 均能促进罗非鱼肝细胞在体外增殖。GSH 处理 72 h 后, 无血清培养的细

胞出现死亡现象, 而此时添加 $900\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ GSH 组的细胞数目最多, H_2O_2 含量在 GSH 处理组亦显著低于对照组, 说明 GSH 本身可以被吸收利用, 促进细胞增殖, 且可以降低 H_2O_2 含量^[18]。因此, 本试验结果用罗非鱼肝细胞印证了 GSH 的作用和作用机理。

3.2 GSH 对体外培养罗非鱼肝细胞生化功能的影响

肝脏具有合成和分泌 IGF-1 的功能^[19]。本试验中, 在添加血清和未添加血清试验组中 GSH 均能显著促进 IGF-1 分泌, 且 IGF-1 分泌与肝细胞增殖表现出一致性。其中, 添加血清培养时细胞的增殖和 IGF-1 的分泌明显高于无血清培养时, 说明肝细胞在营养充足的情况下具有较高的 IGF-1 分泌能力^[20]和增殖能力。

白蛋白由肝脏合成,作为脂肪酸运输载体,是反应肝功能的主要指标之一。本试验中未添加血清培养肝细胞时,肝细胞具有合成分泌白蛋白的能力,且随着培养时间延长,较高剂量的 GSH 处理能促进白蛋白的分泌。在添加血清培养肝细胞时,分泌的白蛋白的量仍远远高于无血清培养时,说明在无血清培养时,肝细胞合成分泌白蛋白的功能有所下降。

GSH 的 γ -谷氨酰基可作为氨基酸转运的载体,参与小肠吸收的氨基酸从微绒毛细胞膜外转运到细胞内,此过程在 γ -谷氨酰基转移酶(γ -GT)催化下完成^[21]。本研究表明,无血清培养时,随着 GSH 处理剂量增大,培养液中 γ -GT 活性显著升高,说明 GSH 可增加肝细胞中 γ -谷氨酰基水平,提高细胞膜基质上的 γ -GT 的活性,促进氨基酸的吸收。添加血清培养时, γ -GT 的活性随着 GSH 处理剂量的增加有升高的趋势,仅 GSH 处理 48 h 后 $300\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 组 γ -GT 活性显著升高,说明在营养充足时 GSH 提高 γ -GT 活性的作用没有营养相对不足时强。

3.3 GSH 对体外培养罗非鱼肝细胞的保护作用

转氨酶主要存在于细胞内,在氨基酸代谢及蛋白质、脂肪、糖三者代谢转化过程中占有重要地位,当组织病变引起细胞膜的通透性增加,或细胞受到损伤时,细胞内的转氨酶才会大量释放出来。研究表明 GSH 具有保护肝脏的作用,在肝脏受到损伤后,可加快肝组织的恢复^[22]。本试验中,无论是否有血清添加,罗非鱼肝细胞培养液中 GOT 活性均随 GSH 处理剂量的增加而下降,表明 GSH 对肝细胞有一定的保护作用,能防止肝细胞膜通透性增加,从而减少 GOT 释放到培养液中。

综上所述,本文从细胞水平揭示,GSH 能够促进奥尼罗非鱼原代肝细胞分泌 IGF-1 和白蛋白,提高 γ -GT 活性,降低 H_2O_2 含量和 GOT 活性,促进肝细胞增殖与生长,进一步地验证了 GSH 调控奥尼罗非鱼生长代谢的理论数据,为 GSH 在奥尼罗非鱼饲料的生产提供了技术支持。

参考文献:

[1] 郑希帆.谷胱甘肽的合成及其检测技术研究[D].南昌:南昌大学,2015.
[2] 代涛.谷胱甘肽的合成及其活性的初步评价[D].承德:承德医学院,2015.
[3] 贾贞,王丹,游松.谷胱甘肽的研究进展[J].沈阳药科大学学报,2009,3(26): 238-242.
[4] 时兆燕,汪伟民,邓松华.还原型谷胱甘肽联合腺苷

蛋氨酸治疗化疗药物性肝损害的临床疗效[J]. 安徽医科大学学报,2014,49(1): 122-124.
[5] 周宇光,付国平,肖仔君.谷胱甘肽的生产和应用研究进展[J].食品工业科技,2003,24(3): 89-91.
[6] 赵红霞,谭永刚,周萌,等.饲料中添加谷胱甘肽对草鱼生长、生理指标和抗病力的影响[J].中国水产科学,2007,14(4): 678-683.
[7] 刘晓华,曹俊明,吴建开,等.饲料中添加谷胱甘肽对凡纳滨对虾生长及组织生化组成的影响[J].水生生物学报,2008,32(3): 440-444.
[8] 周婷婷.谷胱甘肽对吉富罗非鱼生长性能和抗氧化功能的影响[D].武汉:华中农业大学,2012.
[9] 周婷婷,曹俊明,黄燕华,等.饲料中添加谷胱甘肽对吉富罗非鱼生长、组织生化指标和非特异性免疫相关酶的影响[J].水产学报,2013,37(5): 742-750.
[10] 焦彩虹,潘庆,汪小东,等.谷胱甘肽对罗非鱼生长性能及激素分泌的影响[C]//熊思岳.第五届世界华人鱼虾营养学术研讨会论文集.广州:中山大学,2004:133-142.
[11] 程宝鸾.动物细胞培养技术[M].广州:华南理工大学出版社,2000:131-132.
[12] PIERCE A L, BECKMAN B R, SHEARER K D, et al. Effects of ration on somatotrophic hormones and growth in coho salmon[J]. Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol, 2001, 128(2): 255-264.
[13] 华益民,林浩然.鱼类胰岛素样生长因子-I的研究进展[J].水产学报,1997,21(3): 327-335.
[14] 陈斌斌,杨修亮,杭宝建,等.谷胱甘肽双功能合成酶的克隆表达、酶学性质及其应用的研究[J].药物生物技术,2015,22(5): 377-381.
[15] 朱帆.哈氏弧菌谷胱甘肽抗氧化系统与耐药的相关性研究[D].湛江:广东海洋大学,2015.
[16] 唐亮.3条谷胱甘肽生物合成途径在酿酒酵母中组合表达的研究[D].北京:北京协和医学院,2015.
[17] 阮海宁.生物转化法生产谷胱甘肽的工艺研究[D].杭州:浙江大学,2014.
[18] SUN Y, OBERLEY L W. Redox regulation of transcriptional activators[J]. Free Radic Biol Med, 1996, 21(3): 335-348.
[19] STEPHENSEN E, STURVE J, FORLIN L. Effects of redox cycling compounds on glutathione content and activity of glutathione-related enzymes in rainbow trout liver[J]. Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol, 2002, 133(3): 435-442.
[20] PÉREZ-SÁNCHEZ J, LE BAIL, P Y. Growth hormone axis as marker of nutritional status and growth performance in fish[J]. Aquaculture, 1999, 177(1): 117-128.
[21] MEISTER A. Glutathione metabolism[J]. Meth Enzymol, 1995, 251: 3-7.
[22] 周建生.谷胱甘肽硫转移酶 M1(GSTM1)在原发性肝细胞癌中的作用及机制研究[D].上海:第二军医大学,2014.

【责任编辑 庄 延】