

网络出版时间:2013-01-14 16:29

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20130114.1629.019.html>

# 甘草提取物对卡拉库尔绵羊血液抗氧化性能的影响

刘俊峰<sup>1,2</sup>, 郭雪峰<sup>2</sup>, 刘永宏<sup>2</sup>

(1 新疆生产建设兵团塔里木畜牧科技重点实验室, 新疆 阿拉尔 843300; 2 塔里木大学 动物科学学院, 新疆 阿拉尔 843300)

【摘 要】 【目的】研究甘草提取物对卡拉库尔绵羊血液抗氧化性能的影响。【方法】选取健康且体质量相近的 6 只卡拉库尔绵羊, 平均体质量为 18.65 kg/只, 随机分为试验组 and 对照组, 分别饲喂添加甘草提取物的基础日粮(甘草提取物添加量 150 mg/kg)及基础日粮, 在正试期的第 15, 30 和 45 天时静脉采血, 分离血清和血浆, 检测血液中总抗氧化能力(T-AOC)、羟自由基(OH·)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)、丙二醛(MDA)和总超氧化物歧化酶(T-SOD)的活性。【结果】试验组卡拉库尔绵羊的 T-AOC、GSH-PX、T-SOD 活性显著高于对照组( $P < 0.05$ ), 而 OH· 试验组显著低于对照组( $P < 0.05$ ), 试验组的 MDA 含量与对照组相比差异不显著( $P > 0.05$ )。【结论】甘草提取物可提高卡拉库尔绵羊的抗氧化能力。

【关键词】甘草提取物; 总抗氧化能力; 羟自由基; 谷胱甘肽过氧化物酶; 丙二醛; 总超氧化物歧化酶; 卡拉库尔绵羊

【中图分类号】 S826.1

【文献标志码】 A

【文章编号】 1671-9387(2013)02-0025-05

## Effects of licorice extract on blood antioxidant properties of Karakul sheep

LIU Jun-feng<sup>1,2</sup>, GUO Xue-feng<sup>2</sup>, LIU Yong-hong<sup>2</sup>

(1 Key Laboratory of Animal Science, Alar, Xinjiang 843300, China; 2 College of Animal Science, Tarim University, Alar, Xinjiang 843300, China)

**Abstract:** 【Objective】 Blood antioxidant properties of Karakul sheep fed with licorice extract were studied. 【Method】 6 healthy Karakul sheep with similar weights (averaged weight was 18.65 kg) were randomly divided into experimental group and control group, 3 repeats for each group. Experimental group were fed with diets supplemented with licorice extract. Blood samples were collected from neck vein of each sheep at day 15, 30 and 45, respectively. Serum and plasma were separated before the blood total antioxidant capacity (T-AOC), hydroxyl free radical (OH·), glutathione peroxidases (GSH-PX), malondialdehyde (MDA) and total super oxide dismutase (T-SOD) vitality were detected. 【Result】 The results showed that T-AOC, GSH-PX, and T-SOD of the experimental group were significantly higher ( $P < 0.05$ ) than that of the control group, while the OH· of the experimental group were significantly lower ( $P < 0.05$ ) than that of the control group. There was no significant difference of MDA between experimental group and control group ( $P > 0.05$ ). 【Conclusion】 Licorice extract used in this study could improve the antioxidant capacity of Karakul sheep.

【收稿日期】 2012-05-18

【基金项目】 新疆生产建设兵团塔里木畜牧科技重点实验室开放课题(HS201106); 兵团博士资金专项(2009JC08)

【作者简介】 刘俊峰(1980—), 男, 内蒙古乌兰察布人, 讲师, 硕士, 主要从事兽医病理学与饲料添加剂研究。

E-mail: liujunfeng423@163.com

【通信作者】 郭雪峰(1980—), 女, 内蒙古乌兰察布人, 副教授, 博士, 主要从事反刍动物营养与饲料添加剂研究。

E-mail: guoxuefeng807@163.com

**Key words:** licorice extract; total antioxidant capacity; hydroxyl radical; glutathione peroxides; millennial dehyde; superoxide dismutase; Karakul sheep

甘草为豆科(Leguminous)甘草属(*Glycyrrhiza* Linn)多种植物的根和根茎,其原植物有 3 种,即乌拉尔甘草(*G. uralensis* Fisch)、胀果甘草(*G. inflata* Bat)和光果甘草(*G. glabra*)。我国是世界上认识和研究甘草最早的国家,甘草性味甘平,归心、肺、脾、胃经,传统医学认为甘草具有补脾益气,润肺止咳,缓急止痛,调和诸药,缓和药性等功效<sup>[1-2]</sup>。近年来,我国学者对甘草提取物进行了大量的研究,结果表明甘草具有抑菌、治疗创伤、有效清除超氧离子和羟自由基、显著抑制脂质体过氧化物等作用<sup>[3-4]</sup>。甘草总多酚和黄酮含量与抗氧化能力密切相关,说明多酚和黄酮可能是发挥抗氧化作用的主要成分<sup>[5]</sup>。甘草作为抗氧化剂的研究始于 1978 年,日本学者比较了 24 种中草药的抗氧化活性,发现甘草极性溶剂萃取物在亚油酸甲酯中具有很好的抗氧化效果<sup>[6]</sup>。虽然国内关于天然抗氧化剂的研究也较多,但有关以甘草提取抗氧化成分作为天然抗氧化剂应用的研究主要集中在食品上,在动物饲料添加剂上的研究很少。本试验以新疆阿拉尔新农甘草产业有限责任公司提供的甘草提取物为抗氧化剂,研究甘草提取物对卡拉库尔绵羊血液抗氧化性能指标的影响,旨在探讨甘草提取物作为卡拉库尔绵羊日粮添加剂的应用前景,为今后在生产中应用提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材 料

在新疆塔里木大学动物科学学院实验研究基地选择健康且体质量相近的 6 只卡拉库尔绵羊,平均体质量 18.65 kg/只。甘草提取物由新疆阿拉尔新农甘草产业有限责任公司提供。试验用基础日粮参照中国苏尼特羊(2001)营养标准配制,精料组成质量分数为:玉米 68.53%,麸皮 3.08%,胡麻饼 20.09%,预混料 8.04%和食盐 0.27%;粗料为棉籽壳(0.29 kg/(只·d))及青贮料(0.44 kg/(只·d));精粗料质量比为 30:70。营养水平为:消化能 8.41 MJ/kg,粗蛋白 110 g/kg,钙 49.6 g/kg 和磷 29.3 g/kg。

血液中总抗氧化能力(T-AOC)、羟自由基(OH·)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)、丙二醛(MDA)、总超氧化物歧化酶(T-SOD)检测试剂盒,

均购于南京建成科技有限公司。T6-新世纪分光光度计测定仪。

### 1.2 试验设计

将试验羊随机分为试验组和对照组,每组 3 只,对照组饲喂基础日粮,试验组饲喂基础日粮添加甘草提取物(甘草提取物在日粮中的添加量为 150 mg/kg)。试验预试期 7 d,正试期 45 d,试验羊每天饲喂 2 次(早 09:00 和晚 08:00),固定给料量 1 kg/(只·d),并记录剩料量,试验全期自由饮水。分别在正试期的 15,30 和 45 d 时静脉采血 10~15 mL,3 500 r/min 离心 10 min 分别收集血清和血浆,−20 ℃保存备用。

### 1.3 血液各项指标的检测

1.3.1 T-AOC 检测 取血清 0.1 mL,根据试剂盒说明书检测 T-AOC 值。

血清中 T-AOC 单位定义及其计算:在 37 ℃ 时,每分钟每毫升血清使反应体系的吸光度( $OD_{520}$ )值每增加 0.01 时,为一个总抗氧化能力单位(U)。

总抗氧化能力(U/mL)=(测定管  $OD_{520}$  − 对照管  $OD_{520}$ ) ÷ 0.01 ÷ 30 × N × n。

式中:N 为反应体系稀释倍数(反应液总体积/取样量),n 为样本测试前稀释倍数。

1.3.2 OH· 检测 按照试剂盒说明书配制好的应用液,先在 37 ℃ 水浴中预温 3 min,操作在 37 ℃ 水浴中进行。参考取样量:血清样本用生理盐水 2 倍稀释后取 0.2 mL 用于检测,具体取样量由试验前预试验确定。

血清中羟自由基活性能力定义为:每毫升血清在 37 ℃ 下反应 1 min,使反应体系中的  $H_2O_2$  浓度降低 1 nmol/L 为 1 个羟自由基活性能力单位。

OH· 活性(U/mL)=(对照管  $OD_{550}$  − 测定管  $OD_{550}$ ) / (标准管  $OD_{550}$  − 空白管  $OD_{550}$ ) × 标准管浓度(8.824 mmol/L) × 1 mL × 样本测试前稀释倍数。

1.3.3 GSH-PX 检测 血清 GSH-PX 测定按照试剂盒说明书进行:反应 15 min 后,412 nm 处测定  $OD_{412}$  值(1 cm 光径比色杯,用蒸馏水调零)。

规定每 0.1 mL 血清在 37 ℃ 反应 5 min,扣除非酶促反应作用,使反应体系中的 GSH-PX 浓度降低 1  $\mu$ mol/L 为 1 个 GSH-PX 活力单位(U)。

血清 GSH-PX 活性 = (非酶管  $OD_{412}$  − 酶管

$OD_{412}) / (标准管 OD_{412} - 空白管 OD_{412}) \times 标准管浓度 (20 \mu mol/L) \times 稀释倍数 (6) \times 样本测试前稀释倍数$ 。

1.3.4 MDA 检测 取血浆 0.2 mL,操作步骤按照试剂盒说明书进行,其中,冰醋酸要购买 AR 级即分析纯级,含量在 99% 以上。旋涡混匀器混匀,试管口用保鲜薄膜扎紧,用针头刺一小孔,95℃ 水浴 40 min,取出后水流冷却,然后 3 500~4 000 r/min 离心 10 min。取上清,在波长 532 nm 处测定各管  $OD_{532}$  值(1 cm 光径比色皿,用蒸馏水调零)。

血浆中 MDA 含量 = (测定管  $OD_{532}$  - 测定空白管  $OD_{532}$ ) / (标准管  $OD_{532}$  - 标准空白管  $OD_{532}$ )  $\times$  标准管浓度(10 nmol/L)  $\times$  样本测试前稀释倍数。

1.3.5 T-SOD 活性检测 取血清 30  $\mu$ L,按照试剂盒说明书进行。在波长 550 nm 处,测定  $OD_{550}$  值(1 cm 光径比色杯,用蒸馏水调零)。计算血清中 T-SOD 活力,其中 T-SOD 活力单位按照每毫升反应液中 SOD 抑制率达 50% 时所对应的 SOD 量为 1 个 SOD 活力单位(U)。

T-SOD 活力(U/mL) = (对照管  $OD_{550}$  - 测定

表 1 甘草提取物对卡拉库尔绵羊血清 T-AOC 的影响

Table 1 Effects of supplement licorice extract on T-AOC of Karakul sheep U/mL

| 组别 Group       | 15 d               | 30 d               | 45 d              | 平均值 Average        |
|----------------|--------------------|--------------------|-------------------|--------------------|
| 试验组 Experiment | 10.11 $\pm$ 2.30 b | 13.51 $\pm$ 1.92 b | 7.32 $\pm$ 1.21 b | 10.31 $\pm$ 3.10 b |
| 对照组 CK         | 7.58 $\pm$ 1.66 a  | 6.63 $\pm$ 2.26 a  | 5.55 $\pm$ 0.25 a | 6.59 $\pm$ 1.57 a  |

注:同列数据后标相同小写字母表示差异不显著( $P>0.05$ ),标不同小写字母表示差异显著( $P<0.05$ )。下表同。  
Note:The data with column after mark the same lowercase letters indicate no significant difference ( $P>0.05$ ),mark different small letters mean significant difference ( $P<0.05$ ). The same as in the following table.

2.2 甘草提取物对卡拉库尔绵羊血清 OH· 的影响

羟自由基是人体在新陈代谢过程中产生的,对生物体毒性最强、危害最大的一种自由基,它可以使组织中的糖类、氨基酸、蛋白质、核酸等物质发生氧

表 2 甘草提取物对卡拉库尔绵羊血清 OH· 活性的影响

Table 2 Effects of supplement licorice extract on OH· of Karakul sheep U/mL

| 组别 Group       | 15 d                    | 30 d                    | 45 d                    | 平均值 Average             |
|----------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| 试验组 Experiment | 1 520.45 $\pm$ 201.59 b | 2 054.97 $\pm$ 129.47 b | 2 431.13 $\pm$ 171.49 b | 2 002.18 $\pm$ 157.63 b |
| 对照组 CK         | 4 927.26 $\pm$ 121.10 a | 5 978.83 $\pm$ 151.90 a | 5 289.88 $\pm$ 360.88 a | 5 398.65 $\pm$ 134.15 a |

2.3 甘草提取物对卡拉库尔绵羊血清 GSH-PX 活性的影响

GSH-PX 是机体内广泛存在的一种重要的过氧化物分解酶,其功能是保护动物免受摄入脂质过氧化物的损害<sup>[8-9]</sup>。GSH-PX 有 2 种:一种是含硒的谷胱甘肽过氧化物酶(Se-GSH-PX),另一种是不含硒的谷胱甘肽过氧化物酶(non-Se-GSH-PX)<sup>[10]</sup>。

管  $OD_{550}$ )  $\div$  (对照管  $OD_{550}$ )  $\div$  50%  $\times$  反应体系的稀释倍数  $\times$  样本测试前稀释倍数。

1.4 数据处理

试验数据统计分析采用 Excel 和 SPSS17.0 软件中的平衡试验设计方差分析过程(ANOVA)进行,均值的多重比较采用 Duncan 法进行。两组间均值比较均用  $t$  检验,测定值用“均值 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )”表示。

2 结果与分析

2.1 甘草提取物对卡拉库尔绵羊血清 T-AOC 的影响

邓卫东等<sup>[7]</sup>研究认为,兰坪绵羊 T-AOC 为 5.30 U/mL,罗姆尼绵羊 T-AOC 为 9.66 U/mL。从表 1 可以看出,试验组卡拉库尔绵羊 T-AOC 显著高于对照组( $P<0.05$ ),证明甘草提取物有提高卡拉库尔绵羊血清 T-AOC 的作用。由此可知,卡拉库尔绵羊 T-AOC 较罗姆尼绵羊弱,但较兰坪绵羊强。

化,导致其细胞坏死和突变。另外,衰老、肿瘤、水污染等均与羟自由基有关<sup>[8]</sup>。由表 2 可以看出,与对照组相比较,试验组卡拉库尔绵羊血清 OH· 活性显著降低( $P<0.05$ ),说明添加甘草提取物有降低卡拉库尔绵羊血清中羟自由基的作用。

张素华等<sup>[11]</sup>研究表明,绵羊、湖羊、绵羊羔羊和湖羊羔羊血清中 GSH-PX 活性分别为 143.14,152.27,149.73 和 150.12 U/mL。何燕等<sup>[12]</sup>通过比色法测定绵羊血清中 GSH-PX 活性为 127.64 U/mL。从表 3 可以看出,与对照组相比较,试验组卡拉库尔绵羊 GSH-PX 活性显著升高( $P<0.05$ ),说明甘草提取物能提高绵羊血清 GSH-PX 活性。

表 3 甘草提取物对卡拉库尔绵羊血清 GSH-PX 活性的影响  
Table 3 Effects of supplement licorice extract on GSH-PX of Karakul sheep U/mL

| 组别 Group       | 15 d            | 30 d            | 45 d            | 平均值 Average    |
|----------------|-----------------|-----------------|-----------------|----------------|
| 试验组 Experiment | 421.53±235.07 b | 446.15±296.76 b | 417.69±179.49 b | 428.46±15.45 b |
| 对照组 CK         | 50.77±48.10 a   | 101.54±0.00 a   | 166.15±39.97 a  | 106.15±57.83 a |

2.4 甘草提取物对卡拉库尔绵羊血浆 MDA 含量的影响

MDA 脂质氧化终产物在体外影响线粒体呼吸链复合物及线粒体内关键酶的活性。胡明<sup>[13]</sup>研究表明,苜蓿皂甙处理绵羊血浆中 MDA 含量为 7.29

nmol/mL。由表 4 可以看出,与对照组相比较,试验组卡拉库尔绵羊血浆 MDA 含量略有下降,但两者差异不显著( $P>0.05$ ),说明甘草提取物对卡拉库尔绵羊血浆中 MDA 含量无明显的作用。

表 4 甘草提取物对卡拉库尔绵羊血浆 MDA 含量的影响  
Table 4 Effects of supplement licorice extract on MDA of Karakul sheep nmol/mL

| 组别 Group       | 15 d        | 30 d        | 45 d        | 平均值 Average |
|----------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| 试验组 Experiment | 5.60±1.64 a | 4.91±0.18 a | 5.07±1.49 a | 5.19±0.36 a |
| 对照组 CK         | 5.65±0.53 a | 6.42±0.88 a | 5.56±0.53 a | 5.88±0.47 a |

2.5 甘草提取物对卡拉库尔绵羊血清 T-SOD 活性的影响

T-SOD 是生物体内重要的抗氧化酶,广泛分布于各种生物体内,如动物、植物、微生物等。SOD 具有特殊的生理活性,是生物体内清除自由基的首要物质。SOD 可对抗与阻断因氧自由基对细胞造成的损害,并及时修复受损细胞,复原因自由基造成的细胞伤害。同时,SOD 是机体内存在的天然超氧自

由基清除因子,它通过上述反应可以将有害的超氧自由基转化为过氧化氢<sup>[13-15]</sup>。张素华等<sup>[11]</sup>研究表明,绵羊、湖羊、绵羊羔羊和湖羊羔羊血清中 SOD 含量分别为 65.36,66.70,64.83 和 65.76 U/mL。由表 5 可以看出,与对照组相比较,除 15 d 外试验组卡拉库尔绵羊血清的 T-SOD 活性显著上升( $P<0.05$ ),表明甘草提取物能够提高卡拉库尔绵羊血清中 SOD 活性。

表 5 甘草提取物对卡拉库尔绵羊血清 T-SOD 活性的影响  
Table 5 Effects of supplement licorice extract on T-SOD of Karakul sheep U/mL

| 组别 Group       | 15 d          | 30 d          | 45 d           | 平均值            |
|----------------|---------------|---------------|----------------|----------------|
| 试验组 Experiment | 96.69±11.22 a | 71.33±10.13 b | 150.42±10.77 b | 106.15±40.38 b |
| 对照组 CK         | 88.02±8.55 a  | 8.88±12.56 a  | 95.39±58.49 a  | 64.10±47.96 a  |

3 结 论

本试验通过对新疆卡拉库尔绵羊饲喂甘草提取物后血液抗氧化指标的测定,结果表明,试验组卡拉库尔绵羊血液中 T-AOC、GSH-PX、T-SOD 活性较对照组有升高趋势,其中试验组 T-AOC、GSH-PX 活性显著高于对照组( $P<0.05$ );在 30 和 45 d 试验组的 T-SOD 活性显著上升( $P<0.05$ ),但 15 d 时试验组和对照组无明显差异;另外,OH·、MDA 较对照组有降低趋势,原因可能为试验动物品种不同或者添加的甘草提取物也不相同所致,目前还有待进一步研究确定。综合上述研究结果证明,本试验所用甘草提取物可提高卡拉库尔绵羊的抗氧化性能。

[参考文献]

[1] 高雪岩,王文全,魏胜利,等.甘草及其活性成分的药理活性研究进展[J].中国中药杂志,2009,34(21):2695-2700.

Gao X Y,Wang W Q,Wei S L,et al. Licorice and active ingredients of the pharmacological activity research progress [J]. China Journal of Traditional Chinese Medicine,2009,34(21): 2695-2700. (in Chinese)

[2] 吴碧华,龙存国,王晓明,等.甘草总黄酮清除羟自由基作用的体外试验探讨[J].川北医学院学报,2001,16(1):3-5.

Wu B H,Long C G,Wang X M,et al. Licorice hydroxyl radicals of flavonoids clear role *in vitro* discussed test [J]. Journal of North Sichuan Medical College,2001,16(1):3-5. (in Chinese)

[3] 祁建军,李先恩.甘草研究新进展[C]//第二届中国甘草学术研讨会暨第二届新疆植物资源开发、利用与保护学术研讨会论文集摘要集,2004.

Qi J J,Li X E. Licorice new progress [C]//The second China licorice and the second international conference on the plant resources development in Xinjiang,the use and the protection of the international symposium of the set. 2004. (in Chinese)

[4] 张巧娥,曹守勤,周玉香,等.甘草提取物对宁夏滩羊血液生化指标的影响[J].饲料研究,2009(10):51-52.

Zhang Q E,Cao S Q,Zhou Y X,et al. Licorice extract of

Ningxia Tanyang the influence of blood index [J]. Feed Research,2009(10):51-52. (in Chinese)

[5] 张改平,朱华泽,杨建雄. 甘草提取物的体外抗氧化活性 [J]. 生物加工工程,2010(3):53-57.  
Zhang G P,Zhu H Z,Yang J X. Licorice extract the antioxidant activity *in vitro* [J]. Biological Processing Project,2010(3):53-57. (in Chinese)

[6] 贾凌云,侯天德,程 昉,等. 杏仁油对实验性高血脂大鼠抗氧化作用的研究 [J]. 西北师范大学学报,2008(2):92-94.  
Jia L Y,Hou T D,Cheng F,et al. Almond oil on experimental high blood fat rat the antioxidant study [J]. Journal of Northwest Normal University,2008(2):92-94. (in Chinese)

[7] 邓卫东,毛华明,孙守荣,等. 乌骨绵羊和非乌骨绵羊血液生理生化指标的比较研究 [J]. 繁殖与生理,2006,42(17):13-16.  
Deng W D,Mao H M,Sun S R,et al. The sheep and the bone of bone sheep blood physiological and biochemical indexes comparative study [J]. J Breeding and Physiological,2006,42(17):13-16. (in Chinese)

[8] 阮芸玮. 人血浆中的抗氧化剂 [J]. 临床生物化学与检验学分册,1995,4(5):21-23.  
Ruan Y W. People plasma of antioxidants [J]. Clinical Biochemistry and Inspection Learn Pathol,1995,4(5):21-23. (in Chinese)

[9] 程建波,张 微,范彩云,等. 不同铜源和水平对肥育绵羊生产性能、铜状态和抗氧化能力的影响 [J]. 中国畜牧杂志,2010,11(16):49-52.  
Cheng J B,Zhang W,Fan C Y,et al. Different copper source and level of performance,copper growing-finishing sheep state and oxidation resistance of influence [J]. China Journal of Animal Husbandry,2010,11(16):49-52. (in Chinese)

[10] 周 玫,陈 瑗. 谷胱甘肽过氧化物酶 [J]. 生命的化学,1985(4):10-12.  
Zhou M,Chen Y. Glutathione peroxidase [J]. Life Chemistry,1985(4):10-12. (in Chinese)

[11] 张素华,付翠萍. 不同日龄绵羊、湖羊血清中抗氧化物的含量测定分析 [J]. 北京农业,2007,33(16):42-44.  
Zhang S H,Fu C P. Different day age sheep,systematic serum antioxidant content determination analysis [J]. Beijing Agricultural,2007,33(16):42-44. (in Chinese)

[12] 何 燕,张明书,黄诒森. 比色法测定谷胱甘肽过氧化物酶活性 [J]. 贵阳医学院学报,1988(4):27-28.  
He Y,Zhang M S,Huang Y S. The colorimetric method to determine the glutathione peroxidase activity [J]. Journal of Guiyang Medical School,1988(4):27-28. (in Chinese)

[13] 胡 明. 苜蓿皂甙对绵羊瘤胃发酵及其它生理功能影响的研究 [D]. 呼和浩特:内蒙古农业大学,2006.  
Hu M. Alfalfa saponins of sheep and other physiological function rumen fermentation impact study [D]. Hohhot: Inner Mongolia Agriculture University,2006. (in Chinese)

[14] Newbold C J,Wallace R J. Different strains of *saccharomyces cerevisiae* differ in their effects on ruminal bacterial numbers *in vitro* and in sheep [J]. J Anim Sci,1995,7(3):1811-1818.

[15] Castaldo D J. Formulation and ingredient particle size [J]. Feed International,1997,5(5):20-21.

(上接第 24 页)

[16] Huang Y D,Su Z J,Li Y M,et al. Expression and purification of glutathione transferase-small ubiquitin-related modifier-metallothionein fusion protein and its neuronal and hepatic protection against D-galactose-induced oxidative damage in mouse model [J]. JPET,2009,329:469-478.

[17] 肖业臣,秦玉侠,解佳森,等. Sumo 分子伴侣与富含二硫键的抗真菌肽 Drs 基因的融合有助于其可溶性表达 [J]. 中国生物工程杂志,2007,27(12):22-25.  
Xiao Y C,Qin Y X,Xie J S,et al. Fusion protein on sumo molecular chaperone and antifungal peptide Drs help to soluble expression [J]. China Biotechnology,2007,27(12):22-25. (in Chinese)

[18] 王会岩,田海山,赵宏鑫,等. 人成纤维细胞生长因子-21 的基因的克隆表达及蛋白的纯化 [J]. 吉林大学学报:医学版,2010,36(1):81-85.  
Wang H Y,Tian H S,Zhao H X,et al. Cloning and expression of human FGF21 gene and purification of recombinant protein [J]. Journal of Jilin University: Medicine Edition,2010,36(1):81-85. (in Chinese)

[19] 万晓珊,赵宏鑫,王会岩,等. 成纤维细胞生长因子-21 [Arg<sup>59</sup>]突变体基因的克隆及融合蛋白的表达与纯化 [J]. 吉林大学学报:医学版,2010,36(3):491-495.  
Wan X S,Zhao H X,Wang H Y,et al. Cloning of fibroblast growth factor-21 [Arg<sup>59</sup>] mutant gene and expression and purification of fusion protein with SUMO [J]. Journal of Jilin University: Medicine Edition,2010,36(3):491-495. (in Chinese)

[20] 张耀方,万晓珊,赵宏鑫,等. FGF21 [Tyr<sup>20</sup>]突变体的克隆、表达及纯化 [J]. 吉林大学学报:医学版,2010,36(6):1088-1093.  
Zhang Y F,Wan X S,Zhao H X,et al. Cloning,expression and purification of fibroblast growth factor 21 [Tyr<sup>20</sup>] mutant [J]. Journal of Jilin University: Medicine Edition,2010,36(6):1088-1093. (in Chinese)

[21] 毛秀敏,张雪梅,刘明军,等. 新疆荷斯坦牛  $\beta$  防御素 5 基因的克隆、表达及表达产物的抑菌活性 [J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版,2011,39(8):163-170.  
Mao X M,Zhang X M,Liu M J,et al. Cloning,expression and antibacterial activity of BNBD5 in Xinjiang Holstein Cow [J]. Journal of Northwest A&F University: Nat Sci Ed,2011,39(8):163-170. (in Chinese)