تنظیم سنتز پروتئین شیر توسط اسیدهای آمینه آزاد و متصل به پپتید در گاوهای شیری

خلاصه: اسیدهای آمینه آزاد و متصل به پپتید، سوبسترای اصلی برای ساخت پروتئین شیر در غده پستانی هستند. مقدار پروتئین شیر و تولید گاوهای شیری، توسط اسیدهای آمینه آزاد و متصل به پپتید تنظیم می گردد. مقاله حاضر، اثرات تامین اسیدهای آمینه آزاد و متصل به پپتید روی ساخت پروتئین شیر و مکانیسم های ورای آن را مورد بررسی قرار می دهد.

چکیده: ساخت پروتئین شیر (MP) در غده پستانی گاوهای شیری، روند بیولوژیک پیچیده ای است. به عنوان سوبسترا برای ساخت پروتئین شیر، اسیدهای آمینه مهم ترین مواد مغذی برای ساخت شیر هستند. اسیدهای آمینه آزاد، پیش ساز اصلی ساخت پروتئین شیر هستند و تامین آنها، توسط اسیدهای آمینه متصل به پپتید در خون، کامل می شود. استفاده از اسیدهای آمینه در غده پستانی گاوهای شیری، توجه زیادی از جانب محققان را با هدف افزایش تولید پروتئین شیر، به خود جلب کرده است. تامین اسیدهای آمینه کافی و متوازن، برای بهبود مقدار پروتئین شیر و تولید آن در گاوهای شیری اهمیت زیادی دارد. پیشرفت زیادی در درک اسیدهای آمینه محدود کننده و نیاز به آنها برای ساخت پروتئین شیر در گاوهای شیری صورت گرفته است. این مقاله مروری بر اثرات اسیدهای آمینه آزاد و اسیدهای آمینه متصل به پپتید روی ساخت پروتئین شیر و مکانیسم های آن تمرکز دارد. پیشرفت ها در دانش ما در این زمینه، کمک می کند تا مدل های دقیق تری توسعه پیدا کند تا نیاز به پروتئین جیره ای برای ساخت پروتئین شیر در گاوهای شیری، پیش بینی گردد که در نهایت بازده استفاده از نیتروژن و عملکرد شیردهی گاوهای شیری بهبود خواهد یافت.

کلمات کلیدی: اسیدهای آمینه، پپتیدها، شیردهی، تولید شیر، مسیر سیگنال دهی

۱.مقدمه

شیر ویژگی های تغذیه ای مهمی دارد که برای سلامتی و رشد نوزادان مفید است. به علاوه، شیر، به ویژه شیر گاو، منبع مهم مواد مغذی ضروری در برنامه غذایی انسان است. پروتئین شیر می تواند اسیدهای آمینه ضروری را تامین کند و ارزش غذایی بالایی دارد. اسیدهای آمینه، بلوک های سازنده پروتئین هستند؛ همچنین کاتابولیسم پروتئین را سرکوب کرده و به عنوان سوبسترا برای گلوکونئوژنز عمل می کنند. به علاوه، شیر دارای پروتئین های زیست فعال زیادی است. بخش عمده پروتئین های شیر از غده پستانی مشتق می شود، درون سلول های پوششی این غده ساخته می گردد. پروتئین های شیر مشنق از غده پستانی از کازئین و پروتئین های آب پنیر تشکیل می گردد. پروتئین های شیر مشتق از غده، با استفاده از سوبستراهای مستخرج از خون به شکل اسیدهای آمینه آزاد و اسیدهای آمینه متصل به پپتید، ساخته می شوند. ساخت پروتئین شیر و ترشح آن، روند بیولوژیکی پیچیده ای است، شامل مراحل یکپارچه ای مانند دریافت اسیدهای آمینه آزاد و اسیدهای آمینه متصل به پپتید؛ رونویسی و ترجمه ژن های پروتئین شیر، اصلاح پروتئین بعد از ترجمه و در نهایت ترشح پروتئین ها به داخل مجرای آلوئولار است.

با در نظر گرفتن افزایش تقاضا برای شیر باکیفیت توسط مصرف کنندگان و فواید اقتصادی تولیدکنندگان، نیاز ضروری برای توسعه صنعت لبنیات جهت بهبود غلظت و تولید پروتئین شیر وجود دارد. تغییر غلظت پروتئین شیر می تواند مرتبط با هورمون ها (به ویژه پرولاکتین، هیدروکورتیزون، انسولین و هورمون رشد)، فراهمی مواد مغذی (اسیدآمینه و انرژی) و تنش های محیط زیستی باشد. اصلاح جیره ای، روشی برای بهبود سریع غلظت و تولید پروتئین شیر است. در میان مواد مغذی جیره ای، مقدار و توازن اسیدهای آمینه مهم ترین عوامل برای ساخت پروتئین شیر است. بنابراین، جذب و استفاده از اسیدهای آمینه آزاد و اسیدهای آمینه متصل به پپتید توسط غده پستانی می تواند ساخت پروتئین شیر را تنظیم کند. مقاله مروری حاضر، روی تنظیم ساخت پروتئین شیر توسط اسیدهای آمینه آزاد و اسیدهای آمینه متصل به پپتید در گاوهای شیری تمرکز دارد.

۲. تعیین اسیدهای آمینه محدود کننده

وضعیت تغذیه یک دام بستگی به تامین اسید آمینه و انرژی دارد. دانش در مورد تامین اسیدآمینه و احتیاجات آن، نیاز به پیش بینی تولید پروتئین شیر دارد. در NRC2001، مطابق مطالعات شواب (۱۹۹۶) و رالکوئین و همکاران (۱۹۹۳)، نیاز به اسیدآمینه برای ساخت پروتئین شیر گاوهای شیری، برای متیونین و لیزین توصیه شده بود. متیونین و لیزین اسید آمینه محدود کننده برای نشخوارکنندگان در جیره های خاصی است. حداکثر مقدار پروتئین شیر و تولید آن، با ۷,۲ درصد لیزین و ۲,۴ درصد متیونین در جیره به دست می آید. مطالعه وانگ و همکاران (۲۰۱۰)، همچنین نشان داد وقتی نسبت لیزین به متیونین، ۳ به ۱ بود، بازده مصرف نیتروژن و ساخت پروتئین شیر می تواند تا حداکثر مقدار خود، بهبود یابد.

علاوه بر متیونین و لیزین، سایر اسیدهای آمینه ضروری نیز می تواند به طور بالقوه برای ساخت پروتئین شیر محدود کننده باشد. برای مثال، افزودن هیستیدین محافظت شده در شکمبه (۷ گرم در روز هیستیدین قابل هضم) در جیره های دارای ۵ درصد پودر پر هیدرولیز شده، تولید شیر را تا ۴,۲ درصد افزایش داد و تولید پروتئین شیر را تا ۳,۸ درصد بالا برد. هیستیدین می تواند در جیره های دارای پودر پر هیدرولیز شده محدود کننده باشد. مطالعات اخیر، آرژنین، فنیل آلانین، ایزولوسین، لوسین، والین و ترئونین و هیستیدین را به عنوان اسیدهای آمینه محدود کننده به طور بالقوه برای ساخت پروتئین شیر مورد ارزیابی قرار داده است. این اسیدهای آمینه به طور انفرادی روی میزان ساخت پروتئین های شیر در غده پستانی گاوهای شیری تاثیر می گذارند. یک مطالعه تاثیر افرودن متیونین، لوسین، ایزولوسین و ترئونین روی میزان ساخت بخش کازئین آلفا (CFSR) برای بررسی فرضیه اسیدآمینه محدود کننده انفرادی برای تولید شیر (یک اسیدآمینه ضروری تنها، تولید پروتئین شیر را محدود می کند)، را به طور کمّی مورد بررسی قرار داد. نتایج نشان داد که پاسخ های CFSR به متیونین، لوسین، ایزولوسین و ترئونین، مستقل از هم بود که با تئوری اسیدآمینه محدود کننده تنها، تناقض دارد. در تحقیق یودر و همکاران (۲۰۲۰)، پاسخ های تولید گاوهای شیری به دو گروه، اسیدهای آمینه متیونین، لیزین و هیستیدین به عنوان یک گروه (MKH) و لوسین و ایزولوسین به عنوان گروه دیگر (IL)، مورد مطالعه قرار گرفت. برخلاف فرضیه اسیدآمینه محدود کننده انفرادی، نتایج نشان داد که در مقایسه با گروه شاهد (آب نمک)، تولید پروتئین شیر در گروه های MKH، IL و MKH+ IL به ترتیب تا ۸۴، ۶۴ و ۱۴۵ گرم در روز بهبود پیدا کرد. نیاز به اسیدهای آمینه ضروری

و فرضیه اسیدآمینه محدود کننده هنوز مورد بحث قرار دارند و تحقیقات بیشتری در سطح سلولی و کل دام مورد نیاز است.

۳. تامین اسید آمینه آزاد و متصل به پپتید

۳,۱. اسیدهای آمینه ضروری، ساخت پروتئین شیر را افزایش می دهد

ساخت پروتئین شیر تحت تاثیر تامین اسید آمینه و پروفیل اسیدهای آمینه و نیز تامین و نوع انرژی قرار دارد. در میان اینها، اسیدهای آمینه ضروری، نقش مهمی در افزایش ساخت پروتئین شیر در گاوهای شیری ایفا می کنند. افزایش تامین اسیدآمینه ضروری برای غده پستانی، پایه اکثر تیمارهای جیره ای برای افزایش مقدار پروتئین شیر یا تولید آن است. اسیدهای آمینه ضروری می توانند ساخت پروتئین شیر را از طریق تکثیر سلولی (زنده مانی سلول و تسلسل چرخه سلولی) و فعال سازی مسیر هدف راپامایسین در پستانداران (mTOR) در سلول های پوششی غده پستانی گاو (BMECs) افزایش دهند. برخی مطالعات روی اثرات اسیدهای آمینه ضروری در ساخت پروتئین شیر در گاوهای شیری در جدول ۱ آمده است.

جدول ۱. برخی مطالعات اخیر در مورد اثرات اسیدآمینه ضروری (EAA) روی ساخت پروتئین شیر در گاوهای شیری

EAA	اثرات روی ساخت پروتئین شیر	منبع
متیونین	افزایش تولید شیر و تولید پروتئین شیر	۲۴، ۳۴، ۳۷
	افزایش تولید شیر	۳۸
	افزایش ساخت بتا کازئین	۳۹، ۴۰
	بدون تاثیر روی تولید شیر و پروتئین شیر	۴۱، ۴۲
	افزایش مقدار پروتئن شیر	۲۲، ۳۵، ۴۳
لیزین	ساخت بتا کازئین را افزایش می دهد	۳۹
	افزایش تولید شیر و پروتئین حقیقی شیر	۴۴
	افزایش تولید شیر و ساخت پروتئین شیر	۲۳، ۴۳، ۴۵، ۴۶
والین	افزایش در فراوانی mRNA کازئین	۴۰
	بدون تاثیر روی تولید شیر و پروتئین شیر	۲۴، ۴۱، ۴۲
	کاهش در تولید پروتئین شیر	۱۴
	همبستگی مثبت با تولید شیر و تولید پروتئین شیر	۲۴، ۴۳
لوسین	ساخت بتا کازئین را افزایش می دهد	۳۹
	کاهش در تولید پروتئین شیر	۱۴
ایزولوسین	افزایش در ساخت پروتئین شیر	۴۳، ۴۵
	کاهش در تولید پروتئین شیر	۱۴
	افزایش در غلظت پروتئین شیر و تولید آن	۲۴، ۳۵، ۴۷، ۴۸

هیستیدین	ساخت بتا کازئین را افزایش داد	۳۹
	تولید شیر را افزایش داد و تمایل به افزایش تولید پروتئین شیر داشت	۲۱
	افزایش تولید شیر و تولید پروتئین شیر	۴۹
فنیل آلانین	همبستگی مثبت با تولید شیر	۲۲
ترئونین	همبستگی مثبت با تولید شیر	۲۴
آرژنین	همبستگی مثبت با تولید شیر	۲۲
	بدون تاثیر روی ساخت پروتئین شیر	۴۵
	همبستگی مثبت با تولید شیر	۲۴

۳,۲. متیونین

متیونین اولین اسیدآمینه محدود کننده برای نشخوارکنندگان است. افزایش تامین متیونین توسط تغذیه جیره های مکمل شده با متیونین محافظت شده در شکمبه، تولید شیر و تولید پروتئین شیر را می تواند افزایش دهد. مقاوت به تجزیه شدن در شکمبه در بسیاری از آنالوگ های متیونین مورد مطالعه قرار گرفته است. D,L ۲- هیدروکسی ۴-متیل بوتانوئیک اسید (HMB)، یکی از آنالوگ های متیونین است که مطالعات زیادی روی آن انجام شده است. افزودن HMB به جیره، تولید شیر و تولید پروتئین شیر گاوهای شیری را افزایش داد. با این حال، نتایج مطالعه سنت پیر و سیلوستر (۲۰۰۵) نشان می دهد که HMB به نظر رسید که قادر نیست نیاز به متونین در ساخت پروتئین شیر گاوهای شیرده را تامین نماید. استر ایزوپروپیل HMB (HMBi) نیز برای تامین متیونین گاوها مورد استفاده قرار گرفته است و با مصرف آن، افزایش تولید پروتئین شیر و درصد آن، مشاهده شده است. تاثیر متیونین روی ساخت پروتئین شیر، پیچیده است. برخی تحقیقات نشان داده که افزایش تامین متیونین محافظت شده در شکمبه (۰/۹ گرم/ هر کیلوگرم ماده خشک مصرفی) درصد پروتئین شیر و تولید شیر را در ابتدای دوره شیردهی گاوهای شیری بهبود داد و همراه آن، یک سری تغییرات فیزیولوژیکی شامل افزایش مصرف ماده خشک، فعالیت پروتئین کیناز B (AKT)، تنظیم افزایشی (مثبت) گلوکز و فراوانی mRNA انتقال دهنده اسید آمینه و رونویسی tRNA آز روی داد. استفاده از متیونین محافظت شده در شکمبه به مقدار ۰,۰۸ درصد ماده خشک جیره، تولید شیر (۴۴,۲ در برابر ۴۰,۴ کیلوگرم در روز) و مقدار پروتئین شیر (۳,۳۲ در برابر ۳,۱۴ درصد) را افزایش داد و شیوع کتوز و جابه جایی شیردان را کاهش داد. در یک مطالعه که توسط لیو و همکاران (۲۰۱۹) انجام شد، بزهای شیرده از راه تزریق سیاهرگی، مخلوطی از اسیدهای آمینه و با حذف تدریجی متیونین (۱۰۰، ۶۰، ۳۰ یا ۰ درصد آن در کازئین) دریافت کردند. تولید پروتئین شیر به ترتیب به ۸۲، ۷۸ و ۶۹ درصد مقدار تولیدی که ۱۰۰ درصد متیونین دریافت می کردند، کاهش یافت و مسیر پیام رسان mTOR و کاتابولیسم کلی اسیدهای آمینه به نظر رسید که دلیل این تغییرات است. آزمایشات برون تنی نیز نشان داد که متیونین می تواند ساخت کازئین را در BMEC ها (سلول های پوششی غده پستانی) با افزایش تکثیر سلولی و فعال کردن مسیر پیام رسان mTOR علاوه بر اینکه سوبسترایی برای ساخت پروتئین شیر است، افزایش دهد.

۳,۳. لیزین

لیزین اسید آمینه محدود کننده دیگر برای گاوهای شیری است. مکمل سازی با لیزین محافظت شده در شکمبه، مقدار پروتئین حقیقی شیر را افزایش داد. بهبود تغذیه لیزین و متیونین به گاوهای شیری، می تواند مصرف خوراک و درصد و تولید پروتئین شیر را افزایش دهد. در ابتدای شیردهی، افزودن ۴۵ گرم اسید آمینه دارای ۵,۶ گرم متیونین محافظت شده در شکمبه و ۱۶,۶ گرم لیزین محافظت شده در شکمبه، مقدار و تولید پروتئین شیر را به ترتیب تا ۱ گرم به ازای هر کیلوگرم شیر و ۳۷ گرم در روز افزایش داد. مکمل سازی با پروتوتیپ لیزین محافظت شده در شکمبه در گاوهای شیری تغذیه شده با جیره دارای کمبود لیزین محافظت شده در شکمبه نیز تولید شیر را افزایش داد و تمایل به افزایش درصد پروتئین شیر داشت. در یک مطالعه انجام شده توسط لوبوز و همکاران (۲۰۲۱)، مکمل سازی با لیزین محافظت شده در شکمبه (۲۰ گرم لیزین قابل جذب در روز) در جیره مبتنی بر پروتئین ذرت، تولید شیر (۱,۱ کیلوگرم/روز) و پروتئین حقیقی شیر گاوهای شیری (۵۰ گرم در روز) را افزایش داد. در مطالعه قبلی ما، اثرات لیزین روی ساخت پروتئین شیر و مکانیسم دریافت لیزین و کاتابولیسم آن در سلول های پوششی غده پستانی (BMEC) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که در مقایسه با گروه های ۰، ۰,۵ و ۲ میلی مول در لیتر لیزین، زنده مانی سلول و ساخت پروتئین در گروه با ۱ میلی مول در لیتر لیزین، به طور معنی داری به ترتیب تا ۱۷ الی ۴۷ درصد و ۷ الی ۲۳ درصد افزایش یافت در حالی که تجزیه پروتئین تا ۴ الی ۶۴ درصد کاهش یافت. متابولیسم لیزین با کربن نشان دار ال-لیزین [^{U-14}C] نشان داد که نسبت لیزین مورد استفاده در ساخت پروتئین، اکسیداسیون به دی اکسید کربن، ساخت آسپارتات و هیستیدین، به ترتیب ۹۰، ۴، ۳ و ۳ درصد بود. به طور مشابه، مطالعه انجام شده توسط موریس و کونونوف (۲۰۲۰)، دریافت که افزودن لیزین محافظت شده در شکمبه (۲۴ گرم در روز لیزین قابل هضم) به یک جیره دارای ۵ درصد پودر پر هیدرولیز شده، ساخت پروتئین شیر گاوهای شیری را افزایش و تجزیه پروتئین را با افزایش توازن نیتروژن (۲۵ به ۱۶ گرم در روز) و کاهش ۳ -متیل هیستیدین (۳,۱۹ به ۳,۴ میلی مول)، کاهش داد. به علاوه، لیزین همچنین می تواند یکپارچگی پروتئین را با افزایش دریافت، توسط بالا بردن بیان ژن ناقل B^{o+} اسیدهای آمینه بازی و خنثای وابسته به سدیم و کلر و فعال کردن mTOR و انتقال دهنده پیام ۲-جانوس کیناز و مسیر پیام رسانی فعال کننده رونویسی ۵ (JAK2-STAT5) با افزایش فعالیت mTOR (۲۲ درصد) و STAT5 (۲۱ درصد) افزایش دهد.

۳,۴. اسیدهای آمینه شاخه دار

اسیدهای آمینه شاخه دار (BCAA)، یعنی لوسین، ایزولوسین و والین نقش فیزیولوژیکی و نقش های متابولیکی بسیار مهمی ایفا می کنند. علاوه بر اینکه به طور ساده، اینها مورد تغذیه قرار می گیرند، می توانند آزاد شدن انسولین، ساخت پروتئین را افزایش دهند و مسیر پیام رسانی mTOR را تنظیم کنند. اسیدهای آمینه شاخه دار همچنین برای ساخت پروتئین شیر در گاوهای شیری مهم هستند. علاوه بر اینکه سوبسترایی برای ساخت پروتئین شیر هستند، همچنین اسیدهای آمینه غیر ضروری مورد نیاز برای ساخت پروتئین شیر را می توانند بسازند. مطالعات جدید تعیین کرده است که علاوه بر متیونین و لیزین، اسیدهای آمینه شاخه دار به طور بالقوه برای ساخت پروتئین شیر محدود کننده هستند. کمبود

آنها می تواند رونویسی ژن کازئین راکاهش دهد و ساخت پروتئین شیر را مهار نماید. به علاوه، مکمل سازی با والین، ساخت پروتئین شیر را توسط تنظیم انتقال دهنده های اسید آمینه، تغییر متابولیسم اسیدهای آمینه ضروری و فعال سازی مسیر پیام رسان mTOR، افزایش داد. نتایج مطالعه هانگ و همکاران (۲۰۲۱)، بیان می کند که ایزولوسین و لوسین می توانند در استفاده از لیزین و متیونین برای ساخت پروتئین شیر، صرفه جویی کنند.

۳,۵. توازن اسیدهای آمینه

گزارش شده است که تولید شیر و تولید پروتئین حقیقی شیر، به طور خطی با افزایش پروتئین خام جیره، افزایش یافت. با این حال، بازده نیتروژن می تواند با کاهش پروتئین خام جیره بهبود پیدا کند. کیفیت منابع پروتئینی جیره، نقش مهمی در رشد، تولید و تولیدمثل دام ها ایفا می کند. عدم توازن اسیدهای آمینه جیره می تواند ساخت پروتئین شیر را کاهش دهد و بازده متابولیسم نیتروژن را پایین آورد. برخی مطالعات نشان داد که تولید شیر، وقتی گاوهای شیری با جیره های فاقد اسیدهای آمینه محدود کننده مانند هیستیدین، متیونین و لیزین تغذیه شدند، مهار شد. پروتئین خام جیره با اسید آمینه نامتوازن، نمی تواند نیاز گاوهای شیری پرتولید را تامین کند. افزودن اسیدهای آمینه ضروری محافظت شده در شکمبه، می تواند اسیدهای آمینه جیره را متوازن سازد و بنابراین عملکرد شیردهی و بازده نیتروژن را بهبود دهد. مکمل سازی با متیونین و لیزین در نسبت مطلوب، می تواند مقدار پروتئین خام جیره را کاهش دهد و دریافت اسید آمینه توسط غده پستانی و تولید شیر را بهبود دهد. این پاسخ ها معمولا مطابق با فرضیه اسیدهای آمینه محدود کننده توجیه می گردد. متوازن کردن پروفیل اسیدهای آمینه ضروری می تواند تولید پروتئین شیر و بازده پروتئین قابل متابولیسم را با افزایش دریافت اسیدهای آمینه ضروری توسط غده پستانی و کاهش کاتابولیسم اسید آمینه، افزایش دهد. نتایج آزمایشات برون تنی در گرفتن نتیجه مشابه، نقش داشته است. بیان ژن پروتئین شیر در BMEC کشت شده یا خطوط سلول های پوششی غده پستانی گاو (MAC-Ts) با مقدار مطلوب اسیدهای آمینه ضروری به طور انفرادی افزایش و با بیشبود یا کمبود هر کدام از اسیدهای آمینه ضروری، کاهش یافت. نسبت اسید آمینه مطلوب، ساخت پروتئین شیر را با افزایش انتقال اسید آمینه به داخل سلول های پوششی غده پستانی، افزایش تنظیم انسولین و فعالیت مسیر پیام رسان mTOR ، افزایش داد. بنابراین، نسبت مناسب اسیدهای آمینه ضروری می تواند توازن اسید آمینه را بهبود دهد و ساخت پروتئین شیر را افزایش دهد، منجر به افزایش بازده استفاده از نیتروژن و عملکرد گاوهای شیری می شود.

۳,۶. اسیدهای آمینه متصل به پپتید، در ساخت پروتئین شیر درگیر هستند

اسید آمینه های آزاد، سوبسترای اصلی برای ساخت پروتئین شیر در غده پستانی گاوهای شیری شیرده هستند. با این حال، برخی اسیدهای آمینه ضروری جذب شده توسط غده پستانی نمی توانند احتیاجات ساخت پروتئین شیر را تامین کنند. این اسیدهای آمینه که نمی توانند احتیاجات برای ساخت پروتئین شیر را تامین کنند، به نظر می رسد از اسیدهای آمینه متصل به پپتید می آیند. بکول و همکاران (۱۹۹۶)، اسیدهای آمینه در پلاسمای سرخرگی بزهای شیرده را آنالیز کردند و دریافتند که ۱۰ تا ۳۰ درصد از کل اسیدهای آمینه، به شکل اسید آمینه متصل به پپتید بود. گزارش شده است که بیش از ۲۵ درصد از سوبسترای ساخت پروتئین شیر از پپتیدهای عبوری از شکمبه می آید.

نتایج مطالعه تاگاری و همکاران (۲۰۰۴) نشان داد که چندین اسید آمینه متصل به پپتید در خون گاوهای شیری شیرده تشخیص داده شد و تعداد قابل توجهی از بخش اسید آمینه متصل به پپتید، توسط غده پستانی جذب می شود. نتایج مطالعات درون تنی با استفاده از گوسفند و بزهای شیرده نشان می دهد که بسیاری از اسیدهای آمینه ضروری توسط غده پستانی از گردش آنها به شکل اسید آمینه متصل به پپتید گرفته شده و برای ساخت پروتئین مورد استفاده قرار می گیرد. برخی مطالعات نشان داد که وقتی دی پپتیدهای دارای متیونین، به شکل مکمل متیونین استفاده شد، ساخت کازئین هم در سلول های پوششی غده پستانی و هم در کشت بافت پستانی، افزایش پیدا کرد. به طور مشابه، اولیگوپپتیدهای تشکیل شده از فنیل آلانین و ترئونین نیز تعداد mRNA ژن آلفا کازئین را در سلول های پوششی غده پستانی در مقایسه با فنیل آلانین و ترئونین آزاد افزایش داد. مطالعه تاگاری و همکاران (۲۰۰۸) نشان داد که دریافت اسیدهای آمینه ضروری متصل به پپتید در غده پستانی، ۳,۷ تا ۴,۸ درصد از اسیدهای آمینه ضروری را تشکیل می دهد.

۴. مکانیسم اسید آمینه آزاد و اسید آمینه متصل به پپتید در پیشروی ساخت پروتین شیر

ساخت پروتئین شیر با استفاده از اسیدهای آمینه آزاد و اسیدهای آمینه متصل به پپتید که توسط غده پستانی از جریان خون به عنوان سوبسترا گرفته می شود، انجام می شود. به علاوه، اسیدهای آمینه (آزاد و متصل به پپتید)، با عمل کردن به عنوان مولکول های پیام رسان، باعث پیشروی ساخت پروتئین شیر می شوند.

۴,۱. مکانیسم پیشروی ساخت پروتئین شیر توسط اسید آمینه آزاد

۴,۱,۱. سیستم های انتقال اسید آمینه

دریافت اسید آمینه توسط غده پستانی، توسط انتقال دهنده های مختلف قرار گرفته روی سمت غشای بازولترال پلاسما در سلول های پوششی غده پستان انجام می شود. میل یک انتقال دهنده به اسید آمینه و نیز تعداد انتقال دهنده های اسید آمینه قرار گرفته در غشا پلاسما، می تواند روی دریافت خالص اسیدهای آمینه توسط پستان تاثیر بگذارد. چندین انتقال دهنده برای اسید آمینه آزاد، از قبل در بافت پستانی شناسایی شده است. این انتقال دهنده های اسید آمینه، نقش های بسیار مهمی در دریافت اسید آمینه توسط غده پستانی و ساخت پروتئین شیر ایفا می کنند. اطلاعات جزئی تر در مورد انتقال دهنده های اسید آمینه اخیرا توسط کاندازامی و همکاران (۲۰۱۸)، مورد بررسی قرار گرفت. سیستم انتقال و سوبستراهای انتقال دهنده اسید آمینه در غده پستانی گاو، در جدول (۲) نشان داده شده است.

سیستم های انتقال اسید آمینه در غده پستانی می تواند توسط عوامل زیادی مانند هورمون ها، شرایط فیزیولوژیکی و سوبسترا تنظیم شود. فعالیت و بیان mRNA انتقال دهنده های اسید آمینه های خنثی متصل به سدیم (SNAT2) در بافت پستانی موش های صحرایی، در روزهای ۱۲ تا ۱۶ شیردهی افزایش یافت، که همزمان با اوج تولید شیر بود و اضافه کردن اسیدهای آمینه توانست فراوانی SNAT2 mRNA را در کشت بافت غده پستانی موش های شیرده با حضور هورمون های لاکتوژنیک در محیط، افزایش دهد. به علاوه، فراوانی mRNA و پروتئین انتقال دهنده ۱ اسید آمینه نوع L (LAT1)، به طور معنی داری در غده پستانی گاوهای شیرده با میزان پروتئین شیر بالا (٪۳<) نسبت به غده پستانی با میزان پروتئین

شیر پایین (٪۳>) بالاتر است؛ همچنین، مسیر mTOR می تواند نقطه کنترل تنظیم بیان LAT1 باشد. همچنین گزارش شده است که مکمل سازی با متیونین می تواند رونویسی انتقال دهنده اسید آمینه خنثی (SLC38A2)، انتقال دهنده کاتیونیک با میل بالا (SLC7A1) و آلفا کازئین را افزایش دهد. نتایج چندین مطالعه همچنین نشان داده است که اسید آمینه متصل به پپتید یا لیزین می تواند فراوانی ATB^{0+}mRNA را هم در سلول های اپیتلیایی غده پستانی کشت داده شده و هم کشت بافت غده پستانی گاو، افزایش دهد.

۴،۱،۲. نقش اسیدهای آمینه در تنظیم ساخت پروتئین شیر

مکانیسم مولکولی که برای کنترل تولید پروتئین شیر گاوهای شیری وجود دارد، به طور کامل مشخص نیست. نقش اسیدهای آمینه به عنوان مولکول های پیام رسان، علاوه بر اینکه سوبسترا هستند، در تنظیم ساخت پروتئین به طور فزاینده در حال شناخته شدن است. انتقال پیام مستقیم از اسیدهای آمینه به محل رونویسی و ترجمه در ساخت پروتئین شیر در سلول های پوششی غده پستانی وجود دارد. اسیدهای آمینه جیره می توانند رونویسی DNA و ترجمه mRNA را با فعال کردن JAK2-STAT5، کنترل کلی کیناز غیرقابل سرکوب ۲ (GCN2) و مسیرهای هدایت پیام mTOR (شکل ۱)، تنظیم کنند. مکمل سازی با اسیدهای آمینه ضروری می تواند ساخت پروتئین شیر را با تقویت مسیرهای mTOR و JAK2-STAT5 افزایش دهد ولی مسیر GCN2 را در سلول های MAC-T و BMEC مهار می کند و سنتتاز سریل tRNA (SARS)، باعث تنظیم مثبت ساخت پروتئین شیر توسط اسیدهای آمینه ضروری می شود. ادیک و همکاران (۲۰۲۱)، دریافتند که کمبود آرژنین، لوسین و لیزین در محیط کشت، مسیر GCN2 را فعال و ترجمه mRNA را مهار کرد و ساخت پروتئین در سلول های پوششی غده پستانی گاو را کاهش داد. گزارش شده است که متیونین، فراوانی mRNA بتا کازئین را با فعال کردن مسیر پیام رسان mTOR در سلول های پوششی غده پستانی گاو افزایش می دهد و غشا گیرنده تیست ۱ اسید آمینه، نقش مهمی در این روند ایفا می کند (TAS1R1/TAS1R3). به علاوه، گزارش شده است که متیونین به طور مثبت، پروتئین شیر و تکثیر سلولی را از طریق مسیر SNAT2- فسفاتیدیل اینوزیتول ۳ کیناز (PI3K) در سلول های پوششی غده پستانی گاو، تنظیم می کند. سایر مطالعات نشان داد که در مقایسه با سلول های پوششی غده پستانی بدون لیزین، ۱ میلی مول/ لیتر لیزین، ساخت پروتئین شیر در سلول های پوششی غده پستانی را با افزایش فراوانی mRNA و STAT5 فسفریله شده و پروتئین های پیام رسان mTOR، افزایش داد. به علاوه، افزایش در والین از ۱۴۲ میکروگرم/ میلی لیتر به ۱۵۶ میکروگرم/ میلی لیتر نیز می تواند ساخت پروتئین شیر MAC-T را با افزایش حالت فسفریله AKT، پروتئین ریبوزومی S6 کیناز بتا ۱ (S6K1) و mTORC1 بهبود دهد. در مقابل، کمبود اسید آمینه می تواند رونویسی و ترجمه کازئین سلول های پوششی غده پستانی را با مهار مسیرهای JAK2-STAT5 و آدنوزین ۵-منوفسفات پروتئین کیناز فعال شده (AMPK)/ mTOR به ترتیب، کاهش دهد. کمبود اسیدهای آمینه شاخه دار می تواند فراوانی mRNA ژن کازئین را کاهش دهد و تولید پروتئین شیر را با تنظیم برگشتی فاکتور شروع یوکاریوتی ۲B اپسیلون (eIF2B€) و فاکتور شروع یوکاریوتی ۲ آلفا (eIF2α) به واسطه غیرفعال شدن mTOR، کم کند. با این حال، تزریق شیردانی اسیدهای آمینه ضروری به مدت ۵ روز، ساخت پروتئین شیر را افزایش داد ولی روی تکثیر سلولی، فراوانی mRNA ژن پروتئین، بیوژنز ریبوزوم یا فعالیت مسیر mTOR در غده پستانی گاوهای شیری تاثیر نداشت. نتایج برخی مطالعات بیان می کند که تنظیم اجزای

پروتئین باز شده که بیوژنز رتیکولوم اندوپلاسمیک را کنترل می کند، می تواند در تنظیم تغذیه ای طولانی مدت ساخت پروتئین شیر نقش داشته باشد. وارد کردن این مفاهیم درون مدل های پاسخ پروتئین شیر، به بهبود پیش بینی تولید شیر و تولید پروتئین شیر، افزایش بازده نیتروژن بعد از جذب و کاهش دفع نیتروژن توسط گاوهای شیری کمک می کند.

اسیدهای آمینه آزاد توسط سلول های پوششی غده پستانی از طریق انتقال دهنده های اسید آمینه گرفته می شوند. اسیدهای آمینه متصل به پپتید، به داخل سلول های پوششی غده پستانی توسط انتقال دهنده های پپتید، منتقل شده و به اسیدهای آمینه آزاد بعد از وارد شدن به داخل سلول، هیدرولیز می شوند. در سلول ها، این اسیدهای آمینه، با فعال کردن ساخت سریل tRNA (SARS)، غشا گیرنده تیست ۱ اسید آمینه ۱/۳ (TAS1R1/TAS1R3)، فسفاتیدیل اینوزیتول ۳ کیناز (PI3K-AKT) و مهار آدنوزین ۵-منوفسفات پروتئین کیناز فعال شده (AMPK)، مسیر هدف راپامایسین (mTOR) غده پستانی را تنظیم می کنند. به علاوه، اسید آمینه می تواند جانوس کیناز ۲-هدایتگر و فعال کننده رونویسی ۵ (JAK2-STAT5) را فعال کند و با فعال کردن SARS، کنترل کلی کیناز غیرقابل سرکوب ۲ (GCN2) را مهار کند.

۴،۲. مکانیسم تقویت ساخت پروتئین شیر توسط اسید آمینه های متصل به پپتید

۴،۲،۱. سیستم های انتقال اسید آمینه متصل به پپتید

اسید آمینه متصل به پپتید می تواند توسط غده پستانی به شکل دست نخورده یا هیدرولیز شده به اسید آمینه متناظر خود قبل از جذب، گرفته شود. برخی مطالعات نشان داده است که اسید آمینه متصل به پپتید، ابتدا توسط عمل هیدرولاز پپتید کوچک روی غشای پایه سلول های پوششی غده پستانی، به اسید آمینه آزاد هیدرولیز می شود و سپس به داخل سلول های پوششی غده پستانی توسط انتقال دهنده اسید آمینه متناظر، انتقال پیدا می کند. سایر مطالعات دریافت که پپتیدهای کوچک می تواند به شکل دست نخورده جذب شود. انتقال دهنده های اصلی پپتید کوچک در سلول های پوششی، پپتید ترانس پورتر ۱ (PepT1) و ۲ (PepT2) هستند. PepT1 نقش مهمی در جذب پپتیدهای کوچک در روده کوچک ایفا می کند و بیان mRNA پپتید ترانسپورتر ۱ در غده پستانی گاوهای شیری مشاهده نشده است. پپتید ترانسپورتر ۲ با میل بالا و ظرفیت پایین، عمدتا در توبول های کلیه بیان پیدا می کند. با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز رونویسی معکوس (RT-PCR) و ایمونوسیتوشیمی، mRNA پپتید ترانسپورتر ۲ و پروتئین در سلول های پوششی غده پستانی گاو تشخیص داده شد. بنابراین شناسایی ترانسپورتر پپتید در غده پستانی می تواند بینش جدیدی در مورد متابولیسم پروتئین و ساخت آن توسط غده پستانی ایجاد کند. بیان پپتید ترانسپورتر ۲ در غده پستانی گاو گزارش شده است که توسط هورمون های لاکتوژنیک (یعنی پرولاکتین، هیدروکورتیزون و انسولین) و سوبستراها (متیونین-متیونین، فنیل آلانین-فنیل آلانین، فنیل آلانین-ترئونین و ترئونین-فنیل آلانین-فنیل آلانین) تنظیم می گردد. مهار پپتید ترانسپورتر ۲ توسط دی اتیل پیروکربونات و PepT2 siRNA، به طور معنی داری دریافت متیونین-متیونین را کاهش داد و ساخت آلفا کازئین و بتا کازئین تحریک شده توسط متیونین-متیونین را در کشت بافت غده پستانی و سلول های پوششی غده پستانی کاهش داد. دریافت متیونین-متیونین در سلول های پوششی غده پستانی همچنین می تواند توسط متیونین-لیزین، متیونین-لوسین، گلایسین-متیونین، لیزین-لیزین و گلایسین-لوسین مهار شود که نشان می دهد این پپتیدها همچنین

سوبستراهایی برای انتقال دهنده های پپتید در سلول های پوششی غده پستانی گاو هستند. به علاوه، مسیر PI3K-AKT، در تنظیم بتا آلانین-ال- لیزیل-N-۷-آمینو-۴-متیل-کومارین-۳-استیک اسید (-β-Ala-Lys AMCA) در سلول های پوششی غده پستانی درگیر است. به طور خلاصه، شواهد قوی وجود دارد که نشان می دهد PePT2 نقش مهمی در انتقال پپتیدهای کوچک دست نخورده و ساخت پروتئین شیر ایفا می کند. با این حال، کینتیک انتقال PepT2 برای پپتیدها به طور انفرادی، مشخص نیست و نیاز به مطالعات بیشتری دارد.

۴،۲،۲. نقش اسیدهای آمینه متصل به پپتید و ساخت پروتئین شیر

اسیدهای آمینه متصل به پپتید (PBAA) بعد از دریافت توسط سلول های پوششی پستان، می توانند ساخت پروتئین شیر و ترشح آن را افزایش دهند و این تحریک ساخت، می تواند به واسطه افزایش فراهمی سوبسترای داخل سلولی، تکثیر سلولی و مسیرهای پیام رسان در سلول های پوششی غده پستان، انجام شود. اول، اسیدهای آمینه متصل به پپتید می توانند به عنوان سوبسترای تغذیه ای برای ساخت پروتئین شیر مورد استفاده قرار گیرند. محتمل ترین مکانیسم این است که PBAA انتقال یافته توسط PepT2، برای ساخت پروتئین شیر بعد از هیدرولیز داخل سلولی به اسیدهای آمینه آزاد درون سلول های پوششی غده پستانی، مورد استفاده قرار می گیرد. این نتیجه گیری توسط تحقیق یانگ و همکاران (۲۰۱۵) تایید شد که دریافتند جایگزینی ۱۵ درصد از متیونین با متیونین-متیونین، به طور معنی داری فراوانی mRNA آلفا کازئین و بیان پروتئین در کشت بافت غده پستانی را افزایش داد و مهار هیدرولازهای پپتید کوچک (آمینوپپتیداز N) توسط بستاتین، افزایش متیونین-متیونین القا شده در ساخت آلفا کازئین را کاهش داد.

دوم، دریافت اسیدآمینه های متصل به پپتید به شکل دست نخورده می تواند رقابت دریافت اسیدآمینه های آزاد توسط انتقال دهنده های اسیدآمینه را کاهش دهد و بنابراین ساخت پروتئین شیر را افزایش دهد. چندین مطالعه نشان داده است که اسیدآمینه متصل به پپتید می تواند ساخت پروتئین شیر را در مقایسه با مقدار معادل اسیدهای آمینه آزاد، افزایش دهد. شواهد تایید می کند که مکانیسم موجود این است که اسیدهای آمینه متصل به پپتید می تواند بیان انتقال دهنده های اسید آمینه و دریافت کل برخی از اسیدهای آمینه آزاد را توسط کاهش رقابت بین انتقال دهنده ها طی جذب اسید آمینه، بهبود دهد. ژو و همکاران (۲۰۱۵)، نشان دادند که فنیل آلانین-فنیل آلانین می تواند ساخت پروتئین شیر را با افزایش بیان ژن انتقال دهنده های کاتیونیک اسید آمینه (SLC6A14) و کل دریافت برخی از اسیدهای آمینه (لیزین، لوسین، ایزولوسین، فنیل آلانین، والین) افزایش دهد. یانگ و همکاران (۲۰۱۵) همچنین تایید کردند که متیونین-متیونین، ساخت پروتئین شیر را با افزایش دریافت متیونین، لیزین، هیستیدین، والین، لوسین و فنیل آلانین و فراوانی mRNA انتقال دهنده های اسید آمینه بازی، بهبود داد.

سوم، اسیدهای آمینه متصل به پپتید همچنین می توانند به عنوان مولکول های پیام رسان در تنظیم ساخت پروتئین شیر عمل کنند (شکل ۱). افزایش ساخت کازئین توسط متیونین-متیونین می تواند به واسطهٔ مسیرهای JAK2-STAT5 و mTOR انجام شود. در مطالعه وانگ و همکاران (۲۰۱۸)، متیونین-متیونین، فعالیت STAT5، JAK2، mTOR، 4EBP1 و S6K1 را افزایش و بنابراین تکثیر سلولی، زنده مانی سلول و ساخت بتاکازئین در سلول های پوششی غده پستانی را

افزایش داد. به علاوه، افزایش تحریک شده توسط متیونین-متیونین در زنده مانی سلول و ساخت پروتئین شیر در سلول های پوششی غده پستانی، توسط مهار فسفریلاسیون JAK2 و مسیرهای پیام رسان mTOR کاهش یافت. چن و همکاران (۲۰۲۰)، اثرات متیونین مکمل یا متیونین-متیونین طی آبستنی روی سنتز سلول های پستانی و لاکتوژنز موش های دچار کمبود متیونین را مقایسه کردند و دریافتند که در مقایسه با متیونین، متیونین-متیونین، ساخت سلول های پستانی (۴۲٪) و لاکتوژنز (۸۴٪) را به طور مؤثرتری از طریق فعال کردن پیام رسان PI3K-AKT، افزایش داد.

۵. نتیجه گیری و چشم انداز آینده

به طور خلاصه، ساخت پروتئین شیر در غده پستانی گاوهای شیری یک روند متابولیکی پیچیده است. اسیدهای آمینه آزاد و اسیدهای آمینه متصل به پپتید، سوبستراهای بسیار مهم و مولکول های پیام رسان برای افزایش ساخت پروتئین شیر هستند. افزایش و توازن تامین اسیدهای آمینه (اسید آمینه های آزاد و متصل به پپتید) برای غده پستان، پایه اکثر تیمارهای جیره ای برای افزایش درصد و تولید پروتئین شیر است. دریافت مقادیر کافی اسیدهای آمینه با توازن خوب، برای بهبود تولید پروتئین شیر در گاوهای شیری بسیار مهم است. با این حال، بخش های زیادی هنوز هست که باید مورد مطالعه قرار گیرد مانند تعیین سایر اسیدهای آمینه محدود کننده ساخت پروتئین شیر، تنظیم اسید آمینه انفرادی یا متصل به پپتید برای ساخت پروتئین شیر و مکانیسم مورد استفاده قرار دادن اسیدآمینه متصل به پپتید در غده پستانی.