



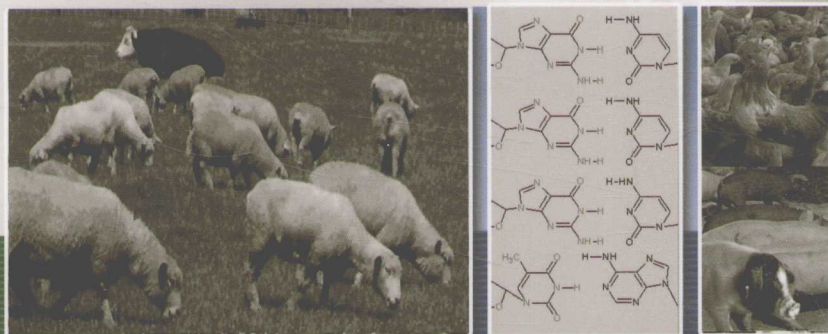
国家出版基金项目
NATIONAL PUBLICATION FOUNDATION

现代农业高新技术成果丛书

动物分子营养学

Animal Molecular Nutrition

张英杰 主编



中国农业大学出版社

CHINA AGRICULTURAL UNIVERSITY PRESS

S816.1/
20131



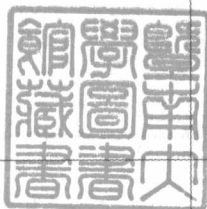
国家出版基金项目
NATIONAL PUBLICATION FOUNDATION

现代农业高新技术成果丛书

动物分子营养学

Animal Molecular Nutrition

张英杰 主编



中国农业大学出版社

• 北京 •

内 容 简 介

动物分子营养学主要是研究营养素与基因之间的相互作用及其对机体健康影响的规律和机制,并据此提出促进动物健康、预防和控制营养缺乏症以及营养相关疾病措施的一门学科。目前动物分子营养学正处于不断完善和发展阶段,在国内还缺乏这方面的专著,作者在查阅大量国内外文献的基础上,结合自己的相关工作编写此书。全书内容主要包括动物分子营养学概述,基因表达和基因表达调控,营养素对基因表达的调控,基因多态性与营养物质代谢,营养素与基因互作对畜禽的影响。

本书适宜从事该领域研究的科研工作者和高等院校相关专业的教师、学生参考、选用。

图书在版编目(CIP)数据

动物分子营养学/张英杰主编. —北京:中国农业大学出版社,2012.6
ISBN 978-7-5655-0507-2

I. ①动… II. ①张… III. ①动物营养 IV. ①S816

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2012)第 037910 号

书 名 动物分子营养学

作 者 张英杰 主编

策划编辑 赵 中

封面设计 郑 川

出版发行 中国农业大学出版社

社 址 北京市海淀区圆明园西路 2 号

电 话 发行部 010-62731190,2620

编辑部 010-62732617,2618

网 址 <http://www.cau.edu.cn/caup>

经 销 新华书店

印 刷 涿州市星河印刷有限公司

版 次 2012 年 6 月第 1 版 2012 年 6 月第 1 次印刷

规 格 787×1 092 16 开本 13.5 印张 330 千字

定 价 48.00 元

责任编辑 王艳欣

责任校对 王晓凤 陈 莹

邮政编码 100193

读者服务部 010-26732336

出 版 部 010-62733440

e-mail cbsszs@cau.edu.cn

图书如有质量问题本社发行部负责调换

现代农业高新技术成果丛书

编审指导委员会

主 任 石元春

副主任 傅泽田 刘 艳

委 员 (按姓氏拼音排序)

高旺盛 李 宁 刘庆昌 束怀瑞

佟建明 汪懋华 吴常信 武维华

编写人员

主 编 张英杰

副主编 刘月琴 孙洪新

编 者 刘 洁 杨少华 董李学

郭勇庆 宋 杰 程善燕

出版说明

瞄准世界农业科技前沿,围绕我国农业发展需求,努力突破关键核心技术,提升我国农业科研实力,加快现代农业发展,是胡锦涛总书记在 2009 年五四青年节视察中国农业大学时向广大农业科技工作者提出的要求。党和国家一贯高度重视农业领域科技创新和基础理论研究,特别是“863”计划和“973”计划实施以来,农业科技投入大幅增长。国家科技支撑计划、“863”计划和“973”计划等主体科技计划向农业领域倾斜,极大地促进了农业科技创新发展和现代农业科技进步。

中国农业大学出版社以“973”计划、“863”计划和科技支撑计划中农业领域重大研究成果为主体,以服务我国农业产业提升的重大需求为目标,在“国家重大出版工程”项目基础上,筛选确定了农业生物技术、良种培育、丰产栽培、疫病防治、防灾减灾、农业资源利用和农业信息化等领域 50 个重大科技创新成果,作为“现代农业高新技术成果丛书”项目申报了 2009 年度国家出版基金项目,经国家出版基金管理委员会审批立项。

国家出版基金是我国继自然科学基金、哲学社会科学基金之后设立的第三大基金项目。国家出版基金由国家设立、国家主导,资助体现国家意志、传承中华文明、促进文化繁荣、提高文化软实力的国家级重大项目;受助项目应能够发挥示范引导作用,为国家、为当代、为子孙后代创造先进文化;受助项目应能够成为站在时代前沿、弘扬民族文化、体现国家水准、传之久远的国家级精品力作。

为确保“现代农业高新技术成果丛书”编写出版质量,在教育部、农业部和中国农业大学的指导和支持下,成立了以石元春院士为主任的编审指导委员会;出版社成立了以社长为组长的项目协调组并专门设立了项目运行管理办公室。

“现代农业高新技术成果丛书”始于“十一五”,跨入“十二五”,是中国农业大学出版社“十二五”开局的献礼之作,她的立项和出版标志着我社学术出版进入了一个新的高度,各项工作迈上了新的台阶。出版社将以此为新的起点,为我国现代农业的发展,为出版文化事业的繁荣做出新的更大贡献。

中国农业大学出版社

2010 年 12 月

前 言

动物分子营养学主要是研究营养素与基因之间的相互作用及其对机体健康影响的规律和机制,并据此提出促进动物健康、预防和控制营养缺乏症以及营养相关疾病措施的一门学科。

随着分子生物学技术的不断发展,众多与营养代谢有关的动物基因被克隆和鉴定,日粮营养对动物代谢调控的影响机制方面的研究已经逐步深入到分子水平,人们对营养与基因调控的关系越来越感兴趣。但目前动物分子营养学正处于不断发展和完善阶段,在国内还缺乏这方面的专著,有必要向我国从事相关工作的人员介绍该领域的相关内容,我们在查阅大量国内外文献的基础上,结合自己的相关工作编写了此书。该书适宜从事该领域研究的教师、学生和科研工作者参考、应用。

全书分为5章。第1章为动物分子营养学概述,简要介绍了动物分子营养学的概念、研究内容及应用价值。第2章为基因表达和基因表达调控,为学习后面的知识奠定基础。第3章为营养素对基因表达的调控,这是动物分子营养学的主要研究内容之一。第4章为基因多态性与营养物质代谢,这是动物分子营养学的另一主要研究内容。第5章为营养素与基因互作对畜禽的影响,探讨营养素与基因互作对动物健康的影响及营养物质对动物繁殖、组织发育和生长发育等性状基因表达调控的分子机制等。本书涉及很多分子生物学和动物营养学方面的知识,在正文后附有主要参考文献,可供读者进一步阅读。

本书编写过程中,得到了河北农业大学王红娜、任立坤、彭津津、贾少敏、杜伟佳、王慧媛、王丽、宋立峰、李婷、孟丽娜等同志的热情帮助,在此特致谢意。

由于作者水平有限,书中缺点和不足之处在所难免,敬请读者批评指正。

张英杰

2012年3月

目 录

第 1 章 动物分子营养学概述	1
1.1 动物分子营养学的概念	1
1.1.1 动物分子营养学概念	1
1.1.2 动物分子营养学与动物营养学的关联	1
1.2 动物分子营养学的研究对象及内容	3
1.2.1 动物分子营养学的研究对象	3
1.2.2 动物分子营养学的研究内容	4
1.2.3 动物分子营养学的研究方法	5
1.3 动物分子营养学的发展简史	6
1.4 动物分子营养学的应用价值	7
1.4.1 确定畜禽个体营养素需要量和供给量	7
1.4.2 构建转基因动物,开发生物工程药物	8
1.4.3 预防畜禽营养代谢病	9
1.4.4 进一步了解基因和营养素间的交互作用	9
第 2 章 基因表达和基因表达调控	10
2.1 基因表达的概念和特点	10
2.1.1 基因表达的概念	10
2.1.2 基因表达的特点	11
2.2 基因表达的方式	12
2.2.1 组成性表达	13
2.2.2 适应性表达	13
2.2.3 协调表达	13
2.3 基因表达调控的基本理论	14
2.3.1 转录前调控	14
2.3.2 转录水平调控	16
2.3.3 转录后水平调控	19

2.3.4	翻译水平调控	21
2.3.5	翻译后水平调控	23
2.4	基因表达调控的意义	24
2.4.1	生命的必需,维持个体发育与分化	24
2.4.2	适应外部环境,维持生长和增殖	25
2.4.3	基因表达调控在分子营养学研究中的应用	25
2.5	营养素调控动物基因表达的机制	26
2.5.1	营养物质调节基因表达的一般模式	27
2.5.2	营养素对基因表达的调节方式和特点	28
2.5.3	营养物质调控基因表达的途径	29
2.5.4	日粮营养物质对动物基因表达调控的主要机制	29
第3章	营养素对基因表达的调控	31
3.1	蛋白质对基因表达的调控	31
3.1.1	蛋白质的生理作用	31
3.1.2	蛋白质对基因表达的调控	32
3.1.3	氨基酸对基因表达的调控	41
3.2	碳水化合物对基因表达的调控	46
3.2.1	碳水化合物的生理作用	46
3.2.2	碳水化合物对基因表达的调控	47
3.3	脂肪对基因表达的调控	56
3.3.1	脂肪的定义	56
3.3.2	脂肪的生理作用	56
3.3.3	脂肪酸的主要性质	57
3.3.4	脂肪对基因表达的调控	57
3.4	矿物质、微量元素对基因表达的调控	68
3.4.1	钙对基因表达的调控	68
3.4.2	磷对基因表达的调控	74
3.4.3	锌对基因表达的调控	77
3.4.4	铁对基因表达的调控	79
3.4.5	铜对基因表达的调控	80
3.4.6	硒对基因表达的调控	82
3.4.7	锰对基因表达的调控	84
3.4.8	铬对基因表达的调控	85
3.4.9	碘对基因表达的调控	86
3.4.10	钴对基因表达的调控	87
3.4.11	镉对基因表达的调控	88
3.4.12	钒对基因表达的调控	89
3.4.13	锂对基因表达的调控	90
3.5	维生素对基因表达的调控	90

3.5.1 维生素 A 对基因表达的调控	91
3.5.2 维生素 D 对基因表达的调控	94
3.5.3 维生素 E 对基因表达的调控	97
3.5.4 维生素 K 对基因表达的调控	98
3.5.5 维生素 C 对基因表达的调控	100
3.5.6 生物素对基因表达的调控	102
3.5.7 叶酸对基因表达的调控	103
3.5.8 维生素 B ₁₂ 对基因表达的调控	103
第 4 章 基因多态性与营养物质代谢	105
4.1 基因多态性对营养物质代谢的影响	105
4.1.1 瘦素及瘦素受体基因多态性对营养物质代谢的影响	105
4.1.2 脂联素基因多态性对营养物质代谢的影响	110
4.1.3 生长素基因多态性对营养物质代谢的影响	115
4.1.4 淀粉酶基因多态性对营养物质代谢的影响	118
4.2 基因多态性对钙、磷代谢的影响	120
4.2.1 钙、磷代谢的整体调节	120
4.2.2 VDR 基因多态性对钙、磷代谢的影响	126
4.3 基因多态性对微量元素代谢的影响	132
4.3.1 基因多态性对铁代谢的影响	132
4.3.2 基因多态性对铜代谢的影响	138
4.3.3 基因多态性对锌代谢的影响	142
4.4 基因多态性对维生素 A 吸收代谢的影响	146
4.4.1 类胡萝卜素及维生素 A 的代谢	146
4.4.2 视黄醇结合蛋白基因多态性对维生素 A 代谢的影响	147
第 5 章 营养素与基因互作对畜禽的影响	152
5.1 营养素与基因的互作关系	152
5.1.1 对营养素与基因互作的认识及其发展过程	152
5.1.2 营养素与基因的相互关系	153
5.1.3 营养素与基因互作的研究热点及其在动物生产中的作用	155
5.2 营养素与基因互作对畜禽生产性能的影响	156
5.2.1 营养素与基因互作对畜产品品质的影响	156
5.2.2 营养素与基因互作对畜禽繁殖性能的影响	158
5.3 营养素与基因互作对营养代谢病和营养需要量的影响	160
5.3.1 营养素与基因互作对营养代谢病的影响	160
5.3.2 营养素与基因互作对营养需要量的影响	163
参考文献	166

第1章

动物分子营养学概述

1.1 动物分子营养学的概念

1.1.1 动物分子营养学概念

关于动物分子营养学(animal molecular nutrition)至今还没有一个公认的权威定义。但可以理解为:动物分子营养学主要是研究动物营养素与基因之间的相互作用(包括营养素与营养素之间、营养素与基因之间和基因与基因之间的相互作用)及其对机体健康影响的规律和机制,并据此提出促进动物健康、预防和控制营养缺乏症以及营养相关疾病措施的一门学科。

广义上来讲,动物分子营养学指一切进入分子领域的动物营养学研究,即一个应用分子生物学技术和方法从分子水平上研究动物营养学的新领域,是动物营养科学研究的一个层面,是动物营养科学的一个组成部分或分支。一方面研究营养素对基因表达的调控作用以及对基因组结构和稳定性的影响,进而对动物健康产生的影响(营养基因组学);另一方面研究遗传因素对营养素消化、吸收、分布、代谢和排泄以及生理功能的决定作用。在此基础上,探讨二者相互作用对动物体健康影响的规律,从而针对不同基因型及其变异、营养素对基因表达的特异调节作用,制订出营养素需要量和供给量标准。

1.1.2 动物分子营养学与动物营养学的关联

传统动物营养学主要研究动物对营养素的摄食、消化吸收、代谢等基础生理、生化过程,而对于不同动物对各种营养素的“必需”与“非必需”及“需求量”等问题,以及对营养代谢的分子机制等方面的研究很少。随着动物营养学研究的深入、分子生物学理论和技术的发展、营养学与遗传学科的交叉以及相互促进,人们从分子水平上逐步认识到营养素与动物的基因表达之间存在密切的相互作用关系。研究表明,动物机体的生理病理变化,如生长发育、新陈代谢、遗

传变异、免疫与疾病等,就其本质而言,都是由于动物基因表达调控发生了改变,许多生理现象的彻底阐明,最终需要在基因水平上进行解释,所以动物营养学各方面研究应与分子生物学技术相结合,从分子水平上来解释日粮中各种营养素对机体的作用机制、动物机体的生理病理变化等问题。对动物营养代谢机制从分子水平上加以剖析,就日粮营养对动物关键代谢酶基因表达调控的分子生物学基础进行研究,将有助于揭示动物生长规律、营养代谢规律和机体的生理病理变化,并为通过营养手段调控动物健康、生长、代谢提供理论基础。

近年来,随着分子生物学技术的不断发展,众多与营养代谢有关的动物基因被克隆和鉴定,日粮营养对动物代谢调控的影响机制方面的研究已经逐步深入到分子水平,人们对营养与基因调控的关系越来越感兴趣,主要集中于日粮营养影响动物基因表达和动物基因表达对日粮营养素利用效率的影响两个方面。

尽管日粮营养不能改变中心法则中遗传信息传递的方向及规律,但是可以通过特殊的途径改变编码动物代谢中关键酶的基因表达而控制动物体内的代谢。该调控过程是日粮营养因素诱发的,通过一系列复杂的代谢调节过程,使最终在靶组织中的某种酶浓度发生改变。日粮营养对动物体内代谢复杂的调控机制是动物在长期进化过程中逐渐形成的为适应生存、尽量维持体内内环境稳定及正常代谢的能力。

研究营养对基因的表达调控和基因-营养互作是当今动物营养学的发展趋势和研究前沿,这对于更深入地阐明营养素在动物体内的代谢机理、寻找评价动物营养状况的更为灵敏的方法,以及调控养分在体内的代谢路径、提高人类的健康水平及养殖动物的生长效益等,都具有划时代的重要科学意义。例如,DNA 芯片技术的引入使分子营养学研究能够检测到营养素对整个细胞、整个组织或整个系统及作用通路上的所有已知和未知基因的影响,使研究者能够真正全面了解营养素的作用机制,彻底颠覆了传统研究思路,极大提高了研究效率。DNA 芯片技术发展到今天,虽然还存在一些诸如如何更好地应用 DNA 芯片技术研究非模型动物(例如猪和鸡等)营养与基因表达等问题,却为我们指出了一条深入研究营养素生理功能分子机制的捷径。

日粮配制和营养供给是影响动物生产的主要方面,营养基因组学的研究和发展为动物营养学家提供了新的理念和创新。在基因表达水平上评估饲料营养配比的效果,确定营养素对动物生产和动物健康的影响作用可以更为有效地发挥动物的生产潜能。多种营养素的缺乏或过量都可以从基因的表达变化上体现出来,说明营养基因组学的发展可为动物营养状态的好坏提供更快更灵敏的生物标记。营养基因组学研究立足于分析某种具体营养元素或食谱与基因变化之间的关系,有助于发现这些变化背后的含义,加强对与饮食有关的疾病的预防和治疗,更进一步的应用领域包括食品安全、食品认证、转基因食物检测和食品重组等方面。对饲料和畜产品中病原菌的检测、饲料原料掺假的鉴别以及资源环境的保护等饲料和畜产品安全问题,营养基因组学技术也可以起到良好的检察和监督作用。

综上所述,动物分子营养学作为动物营养科学的组成部分,它不仅可以从分子水平上证实动物营养现象,更重要的是可以从分子水平上探索动物营养现象的内在机制,这对动物营养科学的发展至关重要。

1.2 动物分子营养学的研究对象及内容

1.2.1 动物分子营养学的研究对象

动物分子营养学的研究对象主要包括3个方面:与动物营养相关的基因结构及其相关的DNA和染色体结构;基因表达的过程及其产物(mRNA、蛋白质);营养素与基因表达和机体的健康。动物分子营养学目前的研究主要侧重于与动物体营养物质代谢相关的基因与营养素的相互作用。

1.2.1.1 营养基因组学

营养基因组学(nutrigenomics)是2000年提出的一种新的营养学理论,是高通量基因组技术在日粮营养素与基因组相互作用及其与健康关系研究中的应用。它是研究营养素和食物化学物质在动物(人)体中的分子生物学过程及其产生的效应,以及对动物(人)体基因的转录、翻译以及代谢的作用机制。

营养基因组学的研究具有3个方面的意义:①可以揭示营养素的作用机制或毒性作用。营养基因组学是应用分子生物学和基因组学技术,通过基因表达的变化来研究营养物质对动物(人)的作用机制,测定单一营养素对某种细胞或组织基因表达谱的影响,检测营养素对整个细胞、组织或系统及作用通路上所有已知和未知分子的影响。因此,这种高通量、大规模的检测无疑将使我们能够真正了解营养素的作用机制。②阐明动物营养需要量的分子生物标记。现有的动物营养需要仅有极少数是依据生化指标确定的,动物营养基因组的研究通过应用含有某种动物全部基因的互补脱氧核糖核酸(complementary DNA, cDNA)芯片,确定动物营养素缺乏、适宜和过剩条件下的基因表达图谱,通过从DNA、RNA到蛋白质等不同层次的研究来寻找、发现适宜的分子标记物,作为评价营养素状况的新指标,进而更准确、更合理地确定动物对营养素的需要量,从而彻底改变传统的剂量-功能反应的营养素需要量研究模式。③使个性营养成为可能。目前的营养需要量均系针对群体而言,而未能考虑个体之间的基因差异。未来将有可能应用基因组学技术阐明与营养有关的单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNPs),并用来研究动物对营养素需求的个体差异,通过基因组成以及代谢型的鉴定,确定个体的营养需要量,使个体营养成为可能,即根据动物的遗传潜力进行个体饲养,这就是“基因饲养”。

1.2.1.2 营养基因多态性

不同生物体或者同种生物体的不同个体之间DNA结构都存在差异,包括DNA序列差异和DNA序列长度差异,这种差异多数发生在非编码蛋白质的区域及没有重要调节功能的区域。DNA结构的差异实质是DNA序列的某些碱基发生了突变,当某些碱基突变(产生两种或两种以上变异的现象)在群体中的发生率超过1%~2%时,就称为基因多态性(gene polymorphism)或遗传多态性。如果基因多态性存在于与营养有关的基因之中,就会导致不同个体对营养素吸收、代谢和利用存在很大差异,并最终导致个体对营养素需要量的不同。动物分子营养学可通过对于不同群体基因多态性的研究,来确定不同群体或个体营养的需要量及缺乏、过量指南。

1.2.2 动物分子营养学的研究内容

作为营养科学的一个组成部分或分支,动物分子营养学的研究内容遍及营养科学的各个领域,总体来说,包括以下几方面内容:①营养素对基因表达的调控作用和调节机制;②遗传变异或基因多态性对营养素消化、吸收、分布、代谢和排泄的影响;③营养素与基因相互作用导致营养缺乏病、营养相关疾病和先天代谢性缺陷的机制及膳食干预研究;④分子生物学技术在临床营养中的应用;⑤分子生物学技术在农业生产中动物生产管理上的应用。其中,营养素与遗传因素的相互作用是基础。

1.2.2.1 营养素对基因表达的调控

几乎所有的营养素对基因的表达都有调节作用,它们直接或者作为辅助因子催化体内的反应,构成大分子的底物,还可以作为信号分子或者改变大分子的结构,所有这些作用都可以导致转录和翻译上的变化。

1. 蛋白质对基因表达的调控作用

日粮中的蛋白质可以以功能蛋白的形式或者分解成氨基酸对基因表达进行调控。研究表明,蛋白质的摄入量可通过调控尿素循环中酶转录所需要的 mRNA 数量,影响机体尿素的合成。另外,摄入的蛋白质的质量对基因的表达也有调控作用,如含酪蛋白饲料喂养的大鼠肝脏 c-myc 基因和类胰岛素生长因子-I (insulin-like growth factor-I, IGF-I) 的 mRNA 水平要高于含玉米蛋白饲料喂养的大鼠。

蛋白质的调控作用部分可能是通过氨基酸来实现。足够的氨基酸的存在是细胞内 mRNA 翻译为蛋白质过程所必需,氨基酸缺乏与不足或氨基酸平衡失调必然会影响翻译过程。一些氨基酸对转录过程具有特异性影响,如原核细胞中的色氨酸、组氨酸对相关操纵子的调控作用。研究表明,降低培养基中亮氨酸浓度,可以使细胞中基础水平很低的类胰岛素生长因子结合蛋白-1 (insulin-like growth factor binding protein-1, IGFBP-1) mRNA 和蛋白质的浓度迅速上升。

2. 脂类对基因表达的调控作用

多不饱和脂肪酸 (polyunsaturated fatty acid, PUFA) 除了是膜成分外,还参与能量代谢和细胞信号转导,并与一些酶和蛋白质的基因表达相关。迄今为止,人们已经发现多种肝脏基因与脂肪组织基因的表达受日粮 PUFA 调节,主要表现为对肝脏脂肪酸合成酶基因表达具有抑制作用,而对其他组织如肺、肾、小肠等的脂肪酸合成酶的基因表达则没有这种明显的抑制作用。另外,研究表明长链脂肪酸可以从转录和 mRNA 稳定性两个水平影响肉碱棕榈酰转移酶 (carnitine palmitoyltransferase, CPT) 和 β -羟基- β -甲基戊二酸单酰辅酶 A (β -hydroxy- β -methylglutaryl coenzyme A, HMG-CoA) 合成酶基因的表达。

3. 碳水化合物对基因表达的调控作用

大量摄入碳水化合物后,肝脏中糖酵解和脂肪合成的酶类含量增加,上述反应与碳水化合物对相关基因的转录、mRNA 加工修饰和稳定性的直接调控作用有关。磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶 (phosphoenolpyruvate carboxykinase, PEPCK) 是肝和肾中糖原异生的关键酶,碳水化合物对 PEPCK 的调控主要是通过对启动子的作用。摄入高碳水化合物低脂肪的膳食时,脂肪酸合成酶 (FAS)、乙酰 CoA 羧化酶 (ACC)、ATP-柠檬裂解酶 (ATP-CL) 等这些酶提高的同

时,伴随着相应的 mRNA 含量的增加。除此之外,Swanson 等(2000)试验发现,饲喂高能量、高淀粉日粮的羔羊能够产生更多、更具活性的胰腺 α -淀粉酶,但 α -淀粉酶 mRNA 降低了;瘤胃液中短链脂肪酸浓度增高,血浆葡萄糖浓度升高,表明日粮对反刍动物胰腺 α -淀粉酶的调控非常复杂,并且这种调控可能发生在转录和转录后水平。

4. 其他营养素对基因表达的调控作用

除蛋白质、脂肪和碳水化合物这三大营养物质对于基因表达具有调控作用以外,维生素、矿物质对于动物基因表达的调控也有不同程度的作用。

1.2.2.2 遗传因素对营养素吸收、代谢和利用的影响

动物营养素需要量存在明显的个体差异。因此,传统的营养素供给量标准,往往需要在营养素需要量基础上加上 2 个标准差,才能满足群体 97%~98% 个体的营养需要。随着分子生物学技术的发展和基因多态性概念的提出,使人们能够从分子水平认识个体营养素需要量差异的本质。人类大约 30% 基因存在多态性,导致不同个体对营养素吸收、代谢与利用的差异,并最终引起个体对营养素需要量的不同。例如机体脂类摄入量对血清胆固醇和甘油三酯水平的影响与载脂蛋白 E(apolipoprotein E, ApoE)基因型有关,ApoE 基因的多态性影响机体对脂类的代谢能力。

1.2.3 动物分子营养学的研究方法

由于动物分子营养学是动物营养学与现代生物学技术相结合而衍生出的一门学科,因此传统动物营养学和现代分子生物学及其相关的研究方法(动物分子遗传学方法、分子流行病学方法、生物化学方法、细胞生物学方法)均适合动物分子营养学的研究,下面从现代分子生物学层面介绍几种相关研究方法。

1.2.3.1 生物信息学方法

生物信息学(bioinformatics)是用数理和信息科学的观点、理论和方法进行生命现象研究,组织和分析呈指数增长的生物学数据,以计算机为主要研究工具,开发和利用各种软件,对日益增长的 DNA 和蛋白质的序列和结构进行收集、整理、贮存、发布、提取、加工、分析和发现的一门学科。生物信息学主要由数据库、计算机网络和应用软件三大部分组成。通过生物信息学方法对动物营养基因组学进行研究将成为一种不可或缺的研究手段和工具。

1.2.3.2 DNA 芯片

DNA 芯片又叫基因芯片(gene chip)或基因微阵列(microarray),就是将半导体工业的微型制造技术与分子生物学技术结合起来,通过把预先设定好的巨大数量的寡核苷酸、肽核酸或 cDNA 固定在一块面积积极小的硅片、塑料、载玻片或尼龙膜等基片上形成 DNA 微点阵,然后与标记的样品通过碱基互补配对原则进行分子杂交,通过检测杂交信号的强弱来判断样品中的分子组成和数量,其优点是可以快速、并行、高效地对样品进行检测和分析。

DNA 芯片技术不但改变了营养学研究的效率,而且改变了研究者的思路。最近几年,DNA 芯片技术应用于分子营养学研究的例子非常多,主要集中在应用 DNA 芯片技术研究能量、蛋白质、脂肪酸、微量元素、维生素与基因表达之间的关系方面。

1.2.3.3 RNA 干扰

RNA 干扰(RNA interference, RNAi)也称为转录后基因沉默,是近几年发展起来的新技

术,其原理是利用外源和内源性双链 RNA 在生物体内诱导同源靶基因的 mRNA 特异性降解,从而导致转录后基因沉默。由于 RNA 干扰可以特异阻断目的基因表达,因此在阐述基因功能及蛋白质相互作用等方面展示了强大的功能和诱人的前景。在动物分子营养学领域, RNAi 这种反向遗传学方法在诠释营养相关基因的功能方面显示了其卓越性能。

1.3 动物分子营养学的发展简史

人们对营养素与基因之间相互作用的最初认识,始于对先天性代谢缺陷的研究。1908年, Garrod 博士在推测尿黑酸尿症(alcaptonuria)的病因时,首先使用了“先天性代谢缺陷”这个名词术语,并由此第一个提出了基因-酶的概念(理论),即一个基因负责一个特异酶的合成。该理论认为,先天性代谢缺陷的发生是由于基因突变或缺失,导致某种酶缺乏、代谢途径某个环节发生障碍、中间代谢产物发生堆积的结果。1917年, Goppert 发现了半乳糖血症,这是一种罕见的半乳糖-1-磷酸尿苷转移酶(GALT)隐性缺乏病;1948年, Gibson 发现隐性高铁血红蛋白血症是由于依赖烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NADH)的高铁血红蛋白还原酶缺乏所致;1952年, Cori 证明葡萄糖-6-磷酸酶缺乏可导致冯吉尔克症(von Gierke disease);1953年, Jervis 的研究表明,苯丙酮尿症(phenylketonuria, PKU)的发生是由于苯丙氨酸羧化酶缺乏所致。由于在先天性代谢疾病研究与治疗方面积累了丰富的经验,并获得了突出成就,1975年美国实验生物学科学家联合会第59届年会在亚特兰大举行了“营养与遗传因素相互作用”专题讨论会,这是营养学历史上具有里程碑意义的一次盛会。

然而,由于当时受分子生物学发展的限制,分子营养学的发展还是非常缓慢的。尽管20世纪50年代 Waltson 和 Crick 提出了 DNA 双螺旋模板学说,60年代 Monod 和 Jacob 提出了基因调节控制的操纵子学说,以及70年代初期 DNA 限制性内切酶的发现和一整套 DNA 重组技术的发展,推动了分子生物学在广度和深度两个方面以空前的高速度发展,但在一段时间内还没有广泛应用于营养学研究。1985年, Simopoulos 博士在西雅图举行的“海洋食物与健康”会议上首次使用了分子营养学这个名词术语,并在1988年指出,由于分子生物学、分子遗传学、生理学、内分泌学、遗传流行病学等所取得的快速发展及向营养学研究领域的渗透,从1988年开始,分子营养学研究进入了高速发展的黄金时代。

1990年,由美国科学家牵头,世界上十几个大国科学家联合,开始了人类基因组计划,2000年人类基因组全部序列测序工作的完成,极大地推动了生命科学各个领域的快速发展。2002年在荷兰召开的第一届国际营养基因组学会议以来,营养基因组学越来越成为营养学研究中不可忽略的一个重要组成部分,分子营养学研究又进入一个新的黄金时期。营养基因组学的显著特征是一系列能够监测数目巨大的分子表达、基因变异等的基因组技术和生物信息学在营养学研究中应用。传统方法诸如 Northern 点杂交、原位杂交、RNA 酶保护试验及实时定量反转录聚合酶链式反应(reverse transcription polymerase chain reaction, RT-PCR)等技术只能针对单个或几个有限的基因进行监测,不能反映整体基因的表达情况,营养基因组学刚好能克服这一缺点。

人类基因组测序完成后,研究的重点已由测序与辨识基因深入到探索基因的功能,营养科学也由营养素对单个基因表达及作用的分析,开始向基因组及表达产物在代谢调节中的作用

研究,即向营养基因组研究方向发展(Elliott等,2002)。以人类基因组“工作框架图”完成为标志,生命科学已进入了后基因组时代。

1986年,美国科学家 Rodefick 提出了功能基因组学(functional genomics),从而使生命科学研究的重心从揭示生命的所有遗传信息,转移到了在分子整体水平对功能的研究上。基因组学(genomics)是指对所有基因进行基因组作图(包括遗传图谱、物理图谱和转录图谱)、核苷酸序列分析、基因定位和基因功能分析的一门科学。但是,基因仅是遗传信息的携带者,而生命功能的真正执行者是蛋白质。基因组学由于自身的局限性,它不能回答诸如蛋白质的表达水平和表达时间、翻译后修饰及蛋白质之间或与其他生物分子的相互作用等问题。后基因组时代生命科学的中心任务就是阐明基因组所表达的真正执行生命活动的全部蛋白质的表达规律和生物功能,由此产生了一门新兴学科——蛋白质组学(proteomics),它与基因组学共同从整体水平解析生命现象。功能基因组学研究和其他学科研究交叉,促进了一些学科的诞生,如营养基因组学。

营养基因组学是由人类基因组学催生出药物基因组学后,掀起的第二轮个性化医学浪潮,营养基因组学也越来越被科学界重视。随着人类基因组计划的完成及正在开展的家畜基因组测序工作的顺利进行,必将为营养基因组学在家畜营养与饲料科学研究领域的应用提供宽广的平台。营养基因组学研究的深入发展可进一步阐明营养代谢的分子机制,为新的营养调控理论的建立提供基础,利用强有力的生物学技术,科学家能够测定单一营养素对细胞或组织基因谱表达的影响。未来营养基因组学研究的重点主要有以下几个方面:①营养物质代谢和免疫调节效应的分子机制;②基因型对营养利用与动物健康的影响;③营养物质对动物繁殖、组织发育和生长发育等性状相关基因表达调控的分子机制;④营养物质对肉品质相关性状基因表达调控的影响;⑤在不同营养水平与饲料组成条件下对调控饲料摄入、代谢基因表达水平的影响。大量的基因信息和新颖的研究技术,为营养基因组学的深入发展提供了有力的保障。在未来的一段时间内,营养基因组学领域结合基因组学、蛋白质组学、基因型鉴定、转录组学和代谢组学,必将快速发展,并对动物营养与饲料科学研究乃至对整个畜牧业生产产生深远的影响。

1.4 动物分子营养学的应用价值

1.4.1 确定畜禽个体营养素需要量和供给量

目前已有的畜禽营养需要量是指动物在最适宜环境条件下,正常、健康生长或达到理想生产成绩对各种营养物质种类和数量的最低要求,是一个群体平均值,未能考虑个体之间的遗传差异。传统用来估测营养素需要量的方法,如消化实验、平衡实验或因分子分析并非适用于所有营养素,尤其是那些具有较强稳态作用,涉及复杂分子调控的营养素。随着动物分子营养学的发展,关于特定营养素影响基因表达及特定的基因或基因型决定营养素需要量的研究会越来越受到重视,预测营养素需要的新时期正在走来。

DNA 芯片技术、mRNA 差异显示技术及 SNPs 等分子生物学技术将有助于发现大批分子水平上可特异地反映营养素水平的指标,如果结合基因表达与蛋白质表达的结果并与代谢