



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 113598286 B

(45) 授权公告日 2023. 03. 10

(21) 申请号 202110862027.1

审查员 王文庆

(22) 申请日 2021.07.29

(65) 同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 113598286 A

(43) 申请公布日 2021.11.05

(73) 专利权人 中国科学院水生生物研究所

地址 430000 湖北省武汉市东湖南路7号

(72) 发明人 徐镇 王庆超 郭倩 徐皓月

董昭然

(74) 专利代理机构 武汉智嘉联合知识产权代理

事务所(普通合伙) 42231

专利代理师 孙迪

(51) Int. Cl.

A23K 50/80 (2016.01)

A23K 20/142 (2016.01)

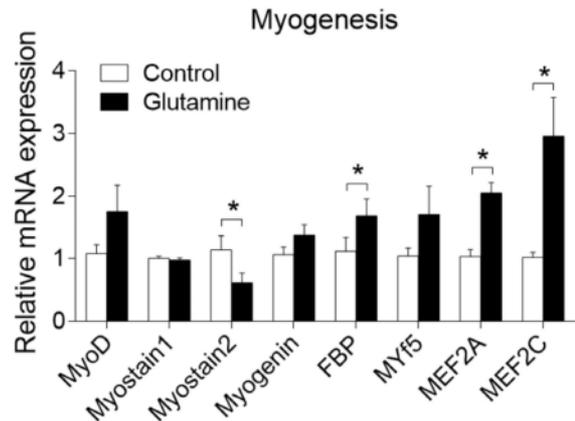
权利要求书1页 说明书8页 附图4页

(54) 发明名称

谷氨酰胺在提高虹鳟生长性能中的应用

(57) 摘要

本发明公开了谷氨酰胺在提高虹鳟生长性能中的应用,通过将谷氨酰胺作为生长促进剂用于饲喂虹鳟,探究谷氨酰胺对于虹鳟生长性能的作用,包括:肌肉生长能力、蛋白质合成与降解能力、肠道的消化能力、肝脏脂质代谢能力等。研究发现谷氨酰胺具有促进虹鳟肌肉生长、抑制蛋白质降解、促进肠道消化并增强肝脏中的脂质代谢,减少肝脏脂质沉积等功能,并且谷氨酰胺可显著提高虹鳟的生长率和饲料利用率。因此可将谷氨酰胺作为生长促进剂,用于提高虹鳟的生产性能,促进虹鳟快速生长,保证鱼体健康,对于虹鳟养殖,提高虹鳟产量具有重要意义。



1. 谷氨酰胺在制备提高虹鳟生长性能的饲料添加剂中的应用,其特征在于,将谷氨酰胺添加于虹鳟饲料中且添加量为1%,所述虹鳟的初始体重为 $30 \pm 2.0\text{g}$,所述生长性能的指标包括:肌肉生长能力、蛋白质降解能力、肠道的消化能力和肝脏脂质代谢能力;

所述谷氨酰胺促进虹鳟的肌肉生长,所述谷氨酰胺通过上调肌细胞增强因子2A、肌细胞增强因子2C、果糖1-6双磷酸酶、生肌决定因子5、肌原蛋白、成肌分化抗原的表达,下调肌肉生长抑制素2的表达,达到促进虹鳟的肌肉生长;

所述谷氨酰胺抑制虹鳟的蛋白质降解,所述谷氨酰胺通过下调凋亡相关蛋白酶Caspase3、肌肉分解因子cathepsin D、钙蛋白酶Calpain1和泛素Ubiquitin-L的表达,上调钙蛋白酶抑制蛋白CAST的表达,达到抑制虹鳟的蛋白质降解;

所述谷氨酰胺促进虹鳟肠道的消化能力;

所述谷氨酰胺促进虹鳟肝脏中脂质的分解代谢。

谷氨酰胺在提高虹鳟生长性能中的应用

技术领域

[0001] 本发明属于鱼类生长促进剂技术领域,具体涉及谷氨酰胺在提高虹鳟生长性能中的应用。

背景技术

[0002] 虹鳟(学名:Oncorhynchus mykiss)是鲑科、太平洋鲑属的一种鲑鱼,体侧因有宽纵带状红色纹而似虹,故名虹鳟,原产于北美洲的太平洋沿岸及堪察加半岛一带。虹鳟是一种经济价值较高的鱼类,其肉质鲜嫩,味美,无腥味,尤小骨刺,食用时无需刮鳞。虹鳟肉中含有丰富的不饱和脂肪酸和氨基酸,有利于人体吸收和营养平衡。其中不饱和脂肪酸能防治心血管疾病,也是脑部、视网膜以及神经系统发育所必需的营养成分,对胎儿和幼儿的大脑发育起到重要作用。同时,不饱和脂肪酸还能有效抵御慢性疾病、糖尿病另外,虹鳟鱼体中含有的被称为“脑黄金”的DHA、EPA,远远高于其他鱼类,具有很好的药用及食用价值,能降低血液中胆固醇的浓度,预防由动脉硬化引起的心血管疾病,减少炎症,预防癌症扩散,还可提高大脑功能。虹鳟鱼体内还含有大量的B族维生素,尤其是维生素B12,以及少量的维生素D、维生素A和维生素E。此外,虹鳟鱼肉内含有对人体代谢有重要作用的微量元素,如硒、碘、氟等。

[0003] 氨基酸是组织和细胞中蛋白质的组成部分,部分氨基酸可以由机体自身内源性合成,另一些氨基酸只能从饮食中获得,氨基酸参与许多重要的代谢和免疫途径,在细胞存活、维持和增殖中发挥着举足轻重的作用。在众多氨基酸中,谷氨酰胺(Gln)是动物体内最通用和最丰富的氨基酸,在机体代谢、酸碱平衡、蛋白质合成等方面至关重要,在几乎所有细胞中,Gln都可以作为核苷酸(嘌呤、嘧啶和氨基糖)、烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)、抗氧化剂合成和许多与维持细胞完整性和功能有关的生物合成途径的底物。

发明内容

[0004] 本发明的目的在于提供了谷氨酰胺在提高虹鳟生长性能中的应用,本发明通过研究发现,谷氨酰胺具有促进虹鳟肌肉生长、抑制蛋白质降解、促进肠道消化并增强肝脏中的脂质代谢,减少肝脏脂质沉积等作用,并且谷氨酰胺可显著提高虹鳟的生长率和饲料利用率。因此可将其作为生长促进剂,用于提高虹鳟的生产性能,促进虹鳟生长,具有极高的生产应用价值。

[0005] 为实现上述目的,本发明采用的技术方案为:

[0006] 本发明提供了谷氨酰胺在提高虹鳟生长性能中的应用。

[0007] 进一步地,所述生长性能的指标包括:肌肉生长能力、蛋白质合成与降解能力、肠道的消化能力和肝脏脂质代谢能力。

[0008] 进一步地,所述谷氨酰胺促进虹鳟的肌肉生长。

[0009] 进一步地,所述谷氨酰胺通过上调肌细胞增强因子2A、肌细胞增强因子2C、果糖1-6双磷酸酶、生肌决定因子5、肌原蛋白、成肌分化抗原的表达,下调肌肉生长抑制素2的表

达,达到促进虹鳟的肌肉生长。

[0010] 进一步地,所述谷氨酰胺抑制虹鳟的蛋白质降解。

[0011] 进一步地,所述谷氨酰胺通过下调凋亡相关蛋白酶Caspase3、肌肉分解因子cathepsin D、钙蛋白酶Calpain1和泛素Ubiquitin-L的表达,上调调钙蛋白酶抑制蛋白CAST的表达,达到抑制虹鳟的蛋白质降解。

[0012] 进一步地,所述谷氨酰胺促进虹鳟肠道的消化能力。

[0013] 进一步地,所述谷氨酰胺促进虹鳟肝脏中脂质的分解代谢。

[0014] 本发明还提供了谷氨酰胺在提高虹鳟的饲料利用率中的应用。

[0015] 本发明还提供了一种虹鳟的生长促进剂,所述生长促进剂中包括谷氨酰胺。

[0016] 与现有技术相比,本发明的有益效果是:本发明通过将谷氨酰胺作为生长促进剂用于饲喂虹鳟,探究谷氨酰胺对于虹鳟生长性能的作用,包括:肌肉生长能力、蛋白质合成与降解能力、肠道的消化能力、肝脏脂质代谢能力等。研究发现谷氨酰胺具有促进虹鳟肌肉生长、抑制蛋白质降解、促进肠道消化并增强肝脏中的脂质代谢,减少肝脏脂质沉积等功能,并且谷氨酰胺可显著提高虹鳟的生长率和饲料利用率。因此可将谷氨酰胺作为生长促进剂,用于提高虹鳟的生产性能,促进虹鳟快速生长,保证鱼体健康,对于虹鳟养殖,提高虹鳟产量具有重要意义。

附图说明

[0017] 图1为本发明实施例1中与肌肉生长相关基因的表达量检测结果;

[0018] 图2为本发明实施例1中与蛋白质降解相关基因的表达量检测结果;

[0019] 图3为本发明实施例1中肠道组织石蜡切片的染色以及肠绒毛长宽比和杯状细胞数目的统计结果;

[0020] 图4为本发明实施例1中肠道中各消化酶的活力检测结果;

[0021] 图5为本发明实施例1中肝脏和血清中TC、HDL、LDL、AST和ALT浓度的检测结果;

[0022] 图6为本发明实施例1中肝脏组织形态染色、肝脏中脂质合成与分解相关基因的mRNA相对表达水平,以及肝脏和血清中TG浓度检测结果。

具体实施方式

[0023] 下面将结合本发明中的实施例,对本发明的技术方案进行清楚、完整地描述,显然,所描述的实施例仅仅是本发明一部分实施例,而不是全部的实施例。基于本发明中的实施例,本领域普通技术人员在没有做出创造性劳动条件下所获得的所有其它实施例,都属于本发明保护的范围。

[0024] 实施例1谷氨酰胺对虹鳟生长性能影响的探究

[0025] 1、试验材料

[0026] 规格一致且健康的虹鳟($30.0 \pm 2.0\text{g}$),在湖北省十堰市商南渔场采用山泉水进行流水养殖。饲养于直径55cm,高50cm的圆筒中,分为两组:对照组与Gln组,每组分3个缸,每缸25尾鱼,每天早中晚定时进行三次投喂,对照组投喂正常虹鳟饲料,Gln组在投喂正常虹鳟饲料的基础上,额外补充质量分数1%的Gln。连续投喂4周后每缸随机取8尾进行取样。每天检测溶氧,隔天检测一次氨氮等水质指标。

[0027] 2、谷氨酰胺对虹鳟肌肉生长和蛋白质降解的作用

[0028] 为研究谷氨酰胺处理后,对虹鳟肌肉生长和蛋白质降解的作用,采用实时荧光定量PCR的方法分析肌肉生长、蛋白质合成降解相关基因的表达量变化,具体的实验步骤如下:

[0029] (1) 总RNA的提取

[0030] 1) 从-80℃冰箱取出组织样品,放入加有1mL TRIzol试剂的2mL RNAiso Plus离心管中,加入DEPC水处理灭菌后的玻璃珠,在匀浆器中匀浆1min并观察TRIzol中组织是否已经破碎完全,随后立即4℃静置10min。

[0031] 2) 加入0.2mL氯仿,剧烈震荡离心管10s,4℃静置5min后12000r/min 4℃离心15min。

[0032] 3) 小心吸取上清液至新的1.5mL RNAiso Plus离心管中,加入等体积的异丙醇,轻轻上下颠倒几次,使异丙醇充分与上清液反应后,4℃静置10min后12000r/min 4℃离心10min。

[0033] 4) 弃上清,加入1mL由DEPC水配制的75%乙醇,使沉淀重旋,7500r/min 4℃离心5min。

[0034] 5) 弃上清,重复步骤4)后通风橱中冰上静置干燥约10min,直到使离心管中75%乙醇挥发完全,加入适量的DEPC水将沉淀溶解,必要时可用移液枪轻轻敲打沉淀,使其完全溶解。

[0035] 6) RNA纯度及浓度的检测:以DEPC水作为空白对照,取1μL RNA于超微量分光光度计中,测定RNA样品浓度以及OD₂₆₀/OD₂₈₀的比值。当吸光度比值在1.9-2.1之间,表明提取的总RNA纯度较高,没有蛋白质或基因组的污染。

[0036] 7) RNA完整性的检测:取2μL RNA,与1μL上样缓冲液混匀,1%的琼脂糖凝胶电泳,电压140V,18min后,在凝胶成像系统中观察结果。28S与18S条带清晰,且亮度比大约是2:1,5S条带若隐若现,而且没有其它条带时,说明提取的总RNA完整性较好,可用于下一步的反转录实验。

[0037] (2) cDNA的合成:

[0038] 1) 基因组DNA的去除:

[0039] 采用是abm反转录试剂盒,操作过程按照试剂盒说明书进行。

[0040] 反转录体系I包括::

试剂	使用量
AccuRT Reaction Mix (4×)	2 μL
RNA Template	1000 ng
RNase-Free H ₂ O	加到 8 μL
Total	8 μL

[0042] 按上述体系加入各试剂,充分震荡混匀离心,在PCR仪42℃放置2min,结束后将产

物放置冰上。

[0043] 2) 反转录反应:

[0044] 准备cDNA的反转录试剂,反转cDNA,反应体系如下表所示:

	试剂	使用量
	AccuRT Reaction Stopper (5×)	2 μL
[0045]	5× All-in-One RT MasterMix 1	4 μL
	Nuclease-free H ₂ O	6 μL
	第一步反应溶液	8 μL
	Total	20 μL

[0046] 依次加入试剂后震荡离心,反应条件为:25℃10min,42℃90min(根据RNA的质量选择反转录的时间),85℃5min。反转录按20μL体系完成,测cDNA的浓度后加去离子水稀释至相同的浓度,-20℃保存。

[0047] (3) 引物设计

[0048] 于NCBI中分别找到虹鳟基因组中,与肌肉生成以及蛋白质降解相关的基因,其中与肌肉生成相关的基因包括:成肌分化抗原(MyoD),肌肉生长抑制素1(Myostain1),肌肉生长抑制素2(Myostain2),肌原蛋白(Myogenin),果糖1-6双磷酸酶(FBP),生肌决定因子5(MYf5),肌细胞增强因子2A、2C(MEF2A/2C);与蛋白质降解相关的基因包括:蛋白酶体20D(Prot 20D),凋亡相关蛋白酶Caspase3,钙蛋白酶Calpain1,钙蛋白酶抑制蛋白CAST,肌肉分解因子cathepsin D以及泛素(Ubiquitin-L)。

[0049] 进一步确定上述基因的开放阅读框区域,按照本领域常规方法,利用该区域基因序列在Primer Premier 5.0软件中设计基因引物(每个基因设计三对),引物合成及DNA序列测定均由北京擎科新业生物技术有限公司武汉合成部合成并纯化。再通过常规PCR技术进行检测,每对引物均确定三个合适的温度梯度进行PCR,然后通过琼脂糖凝胶电泳对PCR产物进行检测,选择三个温度中条带单一且亮的样品送公司进行测序。若比对结果一致,表明引物良好,可用于后续实验。从而筛选得到合适的引物以及最适退火温度。常规PCR扩增体系为:

	试剂	使用量
	Tap 酶	12.5 μL
	dd H ₂ O	10.5 μL
[0050]	Forward Primer	0.5 μL
	Reverse Primer	0.5 μL
	cDNA 模板	1 μL
	总体积	25 μL

[0051] PCR反应条件为:95℃预变性5min;95℃变性30s;55℃退火30s;72℃延伸1min;72℃延伸10min。其中变性退火延伸进行30个循环。

[0052] (4) 实时荧光定量PCR

[0053] qRT-PCR反应在Roche LightCycler® 480系统进行。分别用定量引物和内参引物扩增目的基因片段,以β-Actin基因的表达量作为校准,qRT-PCR反应体系如下:

	试剂	使用量
	cDNA 模板 (300 ng/μL)	1.0 μL
[0054]	Forward Primer	0.15 μL
	Reverse Primer	0.15 μL
	dd H ₂ O	3.7 μL
	2× qPCR MasterMix	5.0 μL

[0055] 按照反应体系,将相应的试剂混合均匀后加入到可避光的96孔板中,封膜,至于低速离心机中离心10s.qRT-PCR反应于Roche LightCycler 480荧光定量PCR仪中,反应条件如下:95℃预变性10min,95℃变性10s,57℃退火10s,共40个循环,并加入溶解曲线,每个样品设置3个重复。

[0056] qRT-PCR结束后,分析溶解曲线以确保反应的特异性。以EF-1α作为内参基因,相对定量数据分析采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法。采用GraphPad Prism 6对qRT-PCR数据进行分析。数据代表至少三个独立的实验(平均值±标准误),使用Student's t-test进行数据分析,其中P<0.05用*表示,代表具有显著性差异;P<0.01用**表示,P<0.001用***表示,均代表具有极显著差异。

[0057] (5) 结果与分析

[0058] 与肌肉生长相关基因的表达情况如图1所示,与蛋白质降解相关基因的表达量如图2所示。结果显示,经Gln处理后,肌肉生成相关因子肌细胞增强因子2A、2C (MEF2A/2C)、果糖1-6双磷酸酶 (FBP) 的表达显著上调;生肌决定因子5 (Myf5)、肌原蛋白 (Myogenin) 和成肌分化抗原 (MyoD) 也呈上升趋势;同时肌肉生长抑制素2 (Myostain2) 的表达显著下降,但肌肉生长抑制素1 (Myostain1) 的表达没有差异。而蛋白质降解相关的因子中,凋亡相关蛋白酶Caspase3和肌肉分解因子cathepsin D的表达显著下降;钙蛋白酶 (Calpain1) 和泛素 (Ubiquitin-L) 的表达呈下降趋势;蛋白酶体20D (Prot 20D) 的表达没有差异;但钙蛋白酶抑制剂 (CAST) 表达显著上调。该结果表明Gln可促进虹鳟的肌肉生成,同时抑制蛋白质的降解。

[0059] 3、谷氨酰胺对虹鳟肠道消化能力的作用

[0060] 对Gln组和对对照组的虹鳟进行肠道组织石蜡切片染色观察,并检测肠道中主要消化酶,包括脂肪酶、α-淀粉酶、胰蛋白酶和糜蛋白酶的酶活。具体实验步骤如下:

[0061] (1) 肠道组织石蜡切片制作

[0062] 1) 取材:MS-222麻醉处理实验鱼,取对照组和Gln组鱼的鳃组织,小心用镊子夹取,避免破坏组织。

[0063] 2) 固定:将所取组织放入4%的多聚甲醛组织固定液中,使固定液充分浸没组织,将固定后的组织放入4℃冰箱或常温固定。

[0064] 3) 梯度脱水:60%无水乙醇4h,70%无水乙醇过夜(8-10h),80%无水乙醇2h,90%无水乙醇2h,95%无水乙醇I 1.5h,95%无水乙醇 II 1h,100%无水乙醇I 0.5h,100%无水乙醇 II 0.5h。

[0065] 4) 透明:苯醇溶液10min,二甲苯I 7min,二甲苯 II 7min。

[0066] 5) 浸蜡:石蜡60℃浸蜡3次,每次换缸,并且每次1h。

[0067] 6) 包埋:将浸蜡完成的包埋框放入已融化的包埋机中,用镊子将组织小心取出,浸没在包埋台上,在组建完整的金属包埋框中注入融化的石蜡,再按照实验所需的合适切面,将包埋台上组织依次放入金属包埋框的中央位置,等待蜡块凝固,蜡块保存于室温。

[0068] 7) 切片:将蜡块根据实验所需修整切面,再固定于切片机上,直至切到需要的合适的组织切面,切片的厚度为5 μ m,放入摊片机中,摊片机水温为41℃左右,待摊片机中切面不再褶皱即可捞片。然后玻片放65℃恒温烘箱中2h。将处理完成的玻片保存于4℃冰箱。

[0069] (2) 阿利新蓝染色(AB) 染色步骤

[0070] 1) 将待染色的玻片放入65℃恒温烘箱中5-10min。

[0071] 2) 脱蜡:二甲苯I 20min,二甲苯 II 15min,二甲苯 III 15min。

[0072] 3) 置换出二甲苯:无水乙醇I 5min,无水乙醇 II 5min,75%无水乙醇5min。水洗3min。

[0073] 4) 尽可能甩干玻片上的水,用组化笔将玻片组织部位圈起来,用阿利新蓝(使用前摇晃均匀)染液进行滴染,确保每个组织覆盖该染液,并用移液枪吹打混匀,染色时间为20-25min。

[0074] 5) 用水冲洗掉染液,然后在水中浸洗3min。

[0075] 6) 甩干水分,用核固红(使用前摇晃均匀)染液对组织进行滴染,吹打混匀,染色时间为10min。用水冲洗掉染料,在水中浸洗3min;。

[0076] 7) 玻片转入85%乙醇5min,95%乙醇5min,脱水专用100%乙醇15min,正丁醇5min,二甲苯I 5min,二甲苯 II 5min。

[0077] 8) 中性树胶封片。

[0078] 9) 成像:使用AXIOVISION软件在显微镜(Olympus)中获取图像。

[0079] (3) 苏木素-伊红染色(HE) 染色步骤

[0080] 1) 将待染色的玻片放入65℃恒温烘箱中5-10min。

[0081] 2) 脱蜡:二甲苯I 20min,二甲苯 II 15min,二甲苯 III 15min。

[0082] 3) 置换出二甲苯:无水乙醇I 5min,无水乙醇 II 5min,75%无水乙醇5min。水洗3min。

[0083] 4) 苏木素染色3min(时间可根据苏木素染液效果作调整),水洗两遍,再于水中浸洗3min。

[0084] 5) 洗完,将玻片浸于分化液中(99mL 70%酒精+1mL浓HCl)3-5s后,在水中清洗5s,擦干水分后镜检。若发现染色较深,则继续放入水中清洗一段时间,以充分去除HCL,若分化不完全,则可重新浸泡于分化液中。

[0085] 6) 冲洗后,浸于返蓝液(99mL 70%酒精+1mL浓氨水)中3-5s,取出后于蒸馏水下冲

洗,再转入蒸馏水中浸洗3min。

[0086] 7) 玻片置于85%乙醇5min,95%乙醇5min,伊红溶液(水溶性伊红1g溶于100mL 85%的酒精)中浸染2-3min。若染色困难可在每100mL染色中加入1-2滴冰醋酸,能使组织容易着色且不易脱色。

[0087] 8) 梯度酒精脱水:无水乙醇I 5min,无水乙醇II 5min,无水乙醇III 5min,正丁醇5min。

[0088] 9) 二甲苯I 5min,二甲苯II 5min。

[0089] 10) 中性树胶封片。

[0090] 11) 成像:使用AXIOVISION软件在显微镜(Olympus)中获取图像。

[0091] 12) 统计并分析肠绒毛长宽比,以及杯状细胞数目。

[0092] (4) 酶活测定

[0093] 取对照组和Gln组的虹鳟,取肠道组织,并采用脂肪酶、 α -淀粉酶、胰蛋白酶和糜蛋白酶试剂盒(购于南京建成生物公司)分别测定肠道中主要消化酶的活力,包括:脂肪酶、 α -淀粉酶、胰蛋白酶和糜蛋白酶。使用Student's t-test进行数据分析,其中 $P < 0.05$ 用*表示,代表具有显著性差异; $P < 0.01$ 用**表示, $P < 0.001$ 用***表示,均代表具有极显著差异。

[0094] (5) 结果与分析

[0095] 检测结果如图3和图4所示,其中图3-(a)为对照组和Gln组的肠道组织石蜡切片的HE和AB染色图(比例尺:50 μ m);图3-(b)为肠道组织中肠绒毛长宽比和杯状细胞数目统计结果;图4为肠道中各消化酶的活力测定结果。

[0096] 结果显示,相较于对照组,Gln组的肠绒毛长宽比显著增加,杯状细胞数目(每根肠绒毛)显著减少,表明Gln促进了肠绒毛生长,有利于营养物质吸收,并且肠道中的脂肪酶活力显著增加,而 α -淀粉酶、胰蛋白酶和糜蛋白酶活力没有明显差异,即表明Gln促进了虹鳟肠道的消化能力。

[0097] 4、谷氨酰胺对虹鳟肝脏脂质代谢的作用

[0098] (1) 为探究谷氨酰胺对于虹鳟肝脏脂质代谢的影响,分别取对照组和Gln组的肝脏和血清,并采用试剂盒(购于南京建成生物公司)测定不同处理组中TC(总胆固醇)、HDL(高密度脂蛋白胆固醇)、LDL(低密度脂蛋白胆固醇)、AST(谷草转氨酶)和ALT(谷丙转氨酶)的浓度,测定结果如图5所示。

[0099] 结果显示,对于肝脏健康状态的评估显示,肝脏中Gln组TC浓度显著降低,LDL浓度也显著降低,而HDL浓度没有差异;在血清中,Gln组TC浓度也显著降低,HDL浓度显著增加,而LDL浓度没有差异。对于另外两个评估肝损伤的重要指标,AST和ALT,无论是在肝脏还是血清中,Gln组的浓度都是显著降低的。由此可见,Gln对肝脏具有保护作用。

[0100] (2) 按照上述方法对肝脏组织形态进行HE染色观察,检测结果如图6-(a)所示,并进一步采用常规的qRT-PCR方法测定肝脏中脂质合成与分解相关基因的mRNA相对表达水平,包括:脂类合成相关的固醇调节原件结合蛋白1(Srebp-1)、乙酰辅酶A羧化酶 α (ACCA)、脂肪酸合成酶(FAS)、脂肪酸脱氢酶(Fads2)、硬脂酰辅酶A去饱和酶(Scd);与脂类分解相关的低密度脂蛋白胆固醇(LPL),肉碱棕榈酰转移酶1 α (Cpt1 α)和过氧化物酶体增殖物激活受体 α (PPAR α)等基因,并采用试剂盒(购于南京建成生物公司)测定不同处理组的肝脏和血清中的TG(甘油三酯)含量,检测结果如图6-(b)所示。

[0101] 结果显示,根据HE染色观察发现Gln组肝脏中白色的脂肪颗粒减少,并且定量结果显示,与脂类合成相关的Srebp-1、ACCa、FAS、Fads2基因表达量均显著下调,Scd表达也呈下降趋势;而与脂类分解相关的LPL表达下调,Cpt1 α 和PPAR α 表达显著上调。与此对应,Gln组肝脏中TG的含量显著降低,而在血清中,TG的含量没有差异,上述结果表明Gln增强了肝脏中脂类的分解代谢进而减少了肝脏中的脂质沉积。

[0102] 5、谷氨酰胺对虹鳟生长率、增重率和饲料转化率的作用

[0103] 分别统计对照组和Gln组的虹鳟的最终体重,并计算特定生长率、增重率以及饲料转化率。其中:

[0104] 特定生长率(SGR,%/day): $100 \times \ln[\text{末重}(\text{g}) - \text{初重}(\text{g})] / \text{养殖天数}$
增重率(%): $(\text{末重} - \text{初重}) / \text{初重}$

[0105] 饲料转化率(%): $\text{投喂量}(\text{g}) / \text{增重}(\text{g})$

[0106] 数据代表至少三个独立的实验(平均值 \pm 标准误),使用Student's t-test进行数据分析,并计算P值,结果如下表所示:

	Control	Glutamine	P value
[0107] 最终体重(g)	35.30 \pm 0.92	39.19 \pm 0.72	0.004
特定生长率(%/day)	0.41 \pm 0.08	0.73 \pm 0.06	0.005
增重率(%)	0.14 \pm 0.03	0.27 \pm 0.02	0.005
饲料转化率(%)	1.62 \pm 0.13	1.12 \pm 0.09	0.005

[0108] 结果显示,经Gln处理后,虹鳟的最终体重、特定生长率及增重率,相较于对照组都显著增加,而饲料转化率则显著降低,上述结果说明Gln提高了鱼类的生长性能以及饲料利用率,因此可将其制成生长促进剂,用以促进虹鳟快速生长,提高产量。

[0109] 以上所述,仅为本发明较佳的具体实施方式,但本发明的保护范围并不局限于此,任何熟悉本技术领域的技术人员在本发明揭露的技术范围内,可轻易想到的变化或替换,都应涵盖在本发明的保护范围之内。

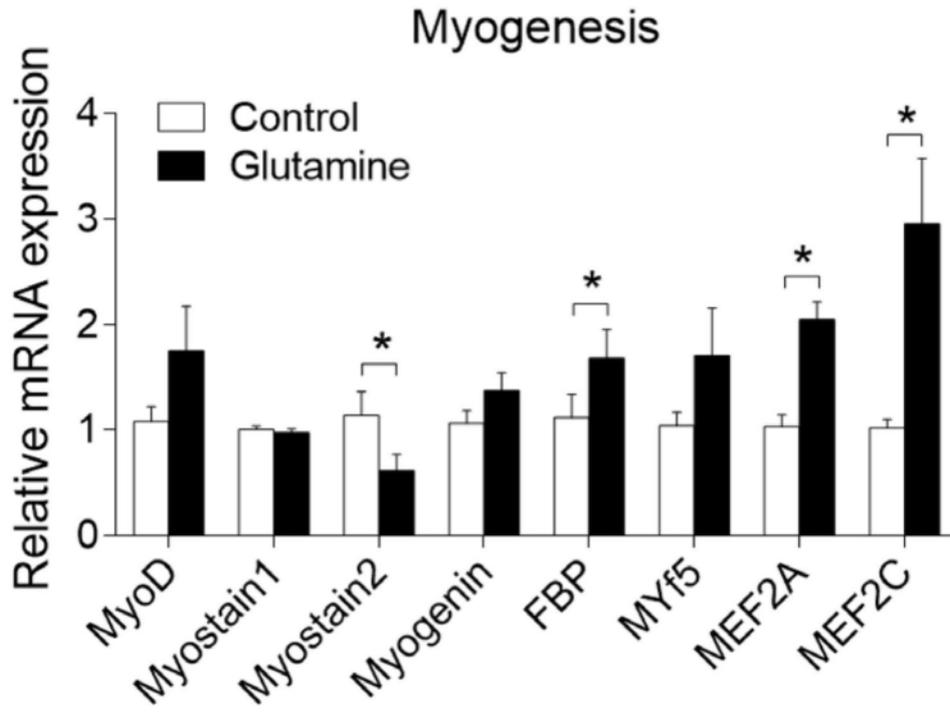


图1

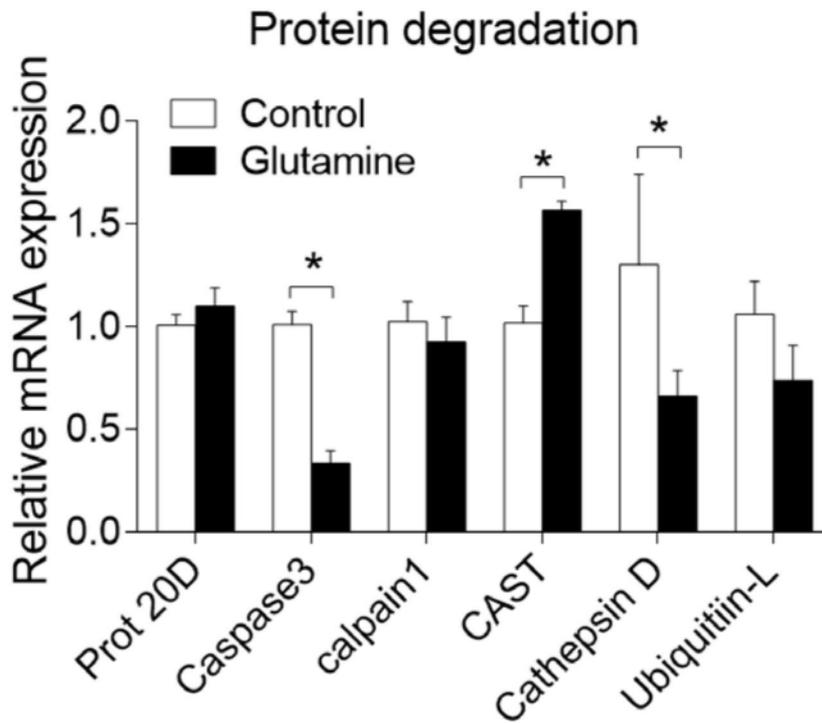


图2

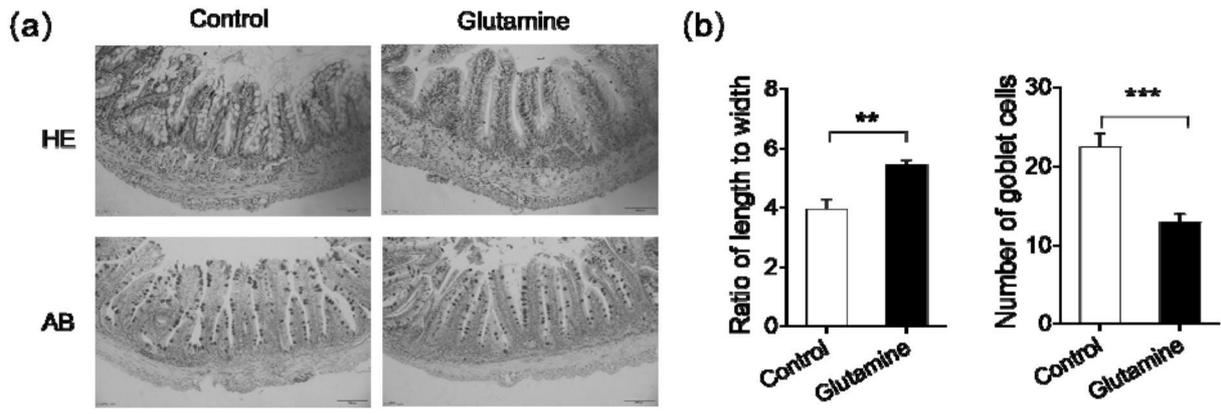


图3

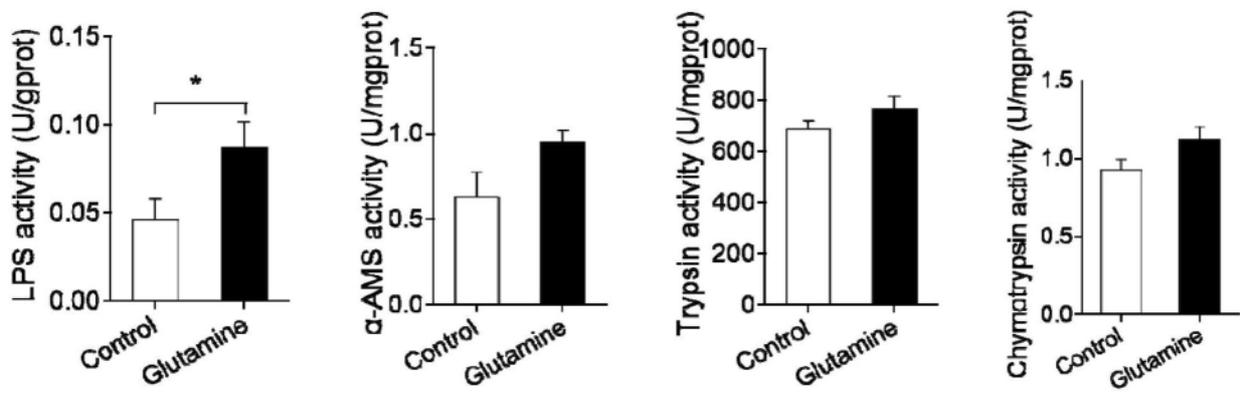


图4

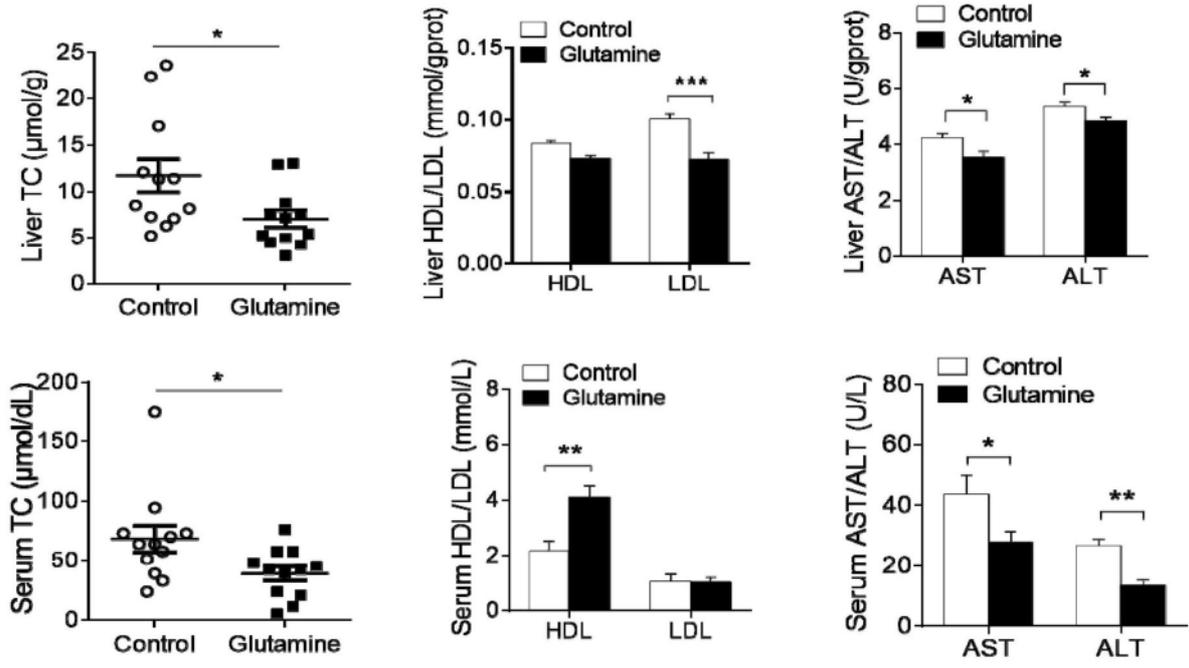


图5

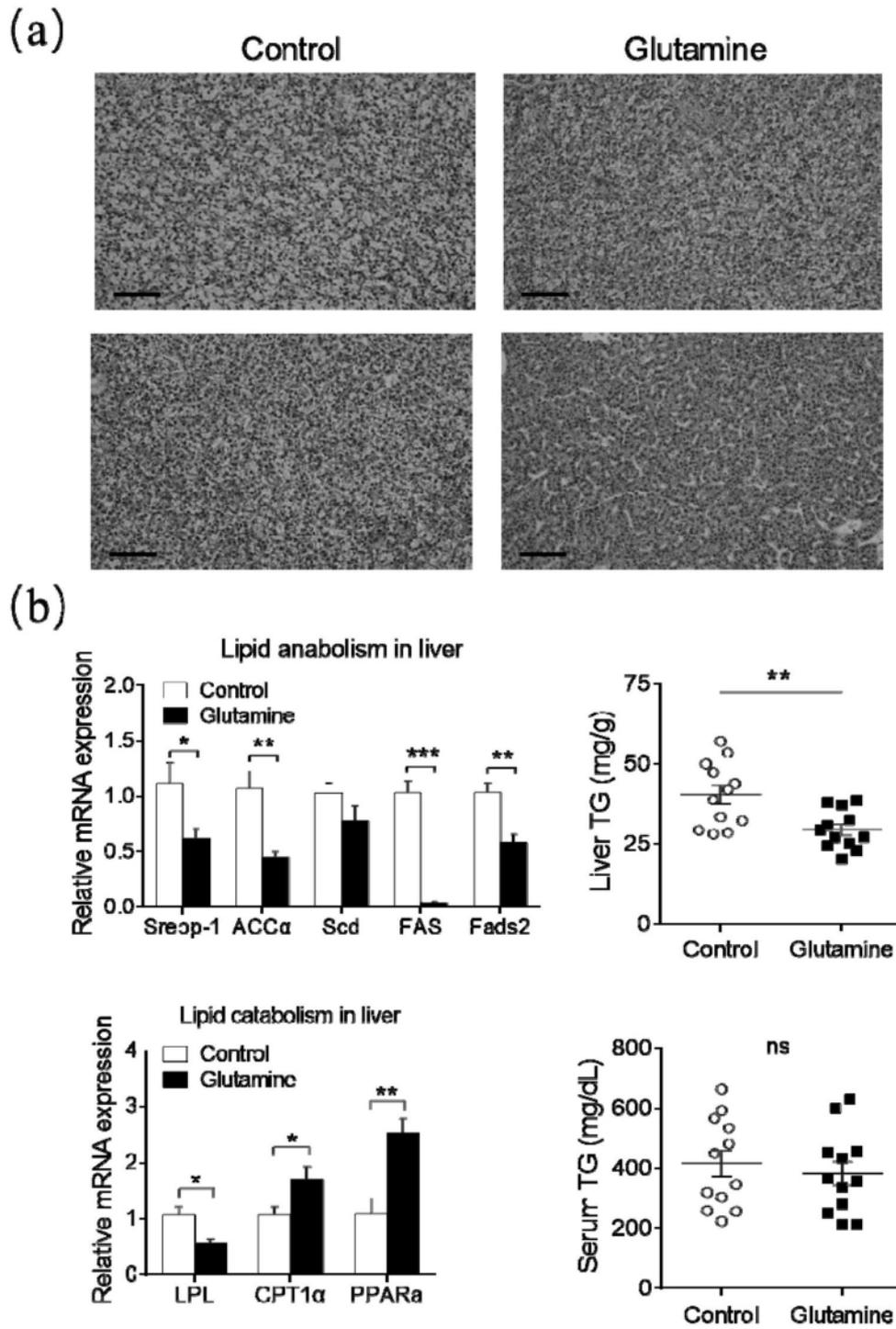


图6