

木聚糖酶对肉鸡肠道碱性氨基酸 转运载体 mRNA 表达的影响

冯定远¹, 谭会泽^{1,2}, 王修启¹, 邹仕庚^{1,3}, 左建军¹, 黄燕华⁴, 董泽敏¹, 张常明¹, 叶慧¹

(1. 华南农业大学动物科学学院, 广州 510642; 2. 四川新希望集团, 成都 610041;

3. 广东科贸职业学院, 广州 510430; 4. 珠海市农业科学研究中心, 珠海 519070)

摘要: 480 只健康的 1 日龄父母代黄羽肉鸡随机分为 A、B 2 组, 每组 6 个重复, 每个重复 40 只鸡。A 组饲喂小麦基础日粮, B 组饲喂小麦基础日粮添加木聚糖酶(木聚糖酶在日粮中的含量为 1.2×10^4 U/kg)。16 日龄时, 各组每个重复选取 2 只接近平均体重的试验鸡, 采集十二指肠和空肠黏膜样品, 用 RT-PCR 的方法研究添加木聚糖酶对碱性氨基酸转运载体 mRNA 表达丰度的影响。结果表明, 小麦基础日粮添加木聚糖酶显著增加了肉鸡空肠 rBAT 和 CAT4 mRNA 的表达丰度 ($P < 0.05$), 空肠 y^+ LAT2 和 CAT1 mRNA 的表达丰度也有增加的趋势 ($P > 0.05$); 而对回肠 rBAT mRNA 的表达丰度没有显著影响, 回肠 y^+ LAT2、CAT1 和 CAT4 mRNA 的表达丰度也有增加的趋势 ($P > 0.05$)。

关键词: 肉鸡; 肠道; 木聚糖酶; 氨基酸转运载体; mRNA 表达

中图分类号: S831.5

文献标识码: A

文章编号: 0366-6964(2008)03-0314-06

Effect of Xylanase on Intestinal Amino Acids Transporters mRNA Expression of Yellow-feathered Chicken Fed Wheat-based Diet

FENG Ding-yuan¹, TAN Hui-ze^{1,2}, WANG Xiu-qi¹, ZOU Shi-geng^{1,3},

ZUO Jian-jun¹, HUANG Yan-hua⁴, DONG Ze-min¹, ZHANG Chang-ming¹, YE Hui¹

(1. College of Animal Science, South China Agricultural University,

Guangzhou 510642, China; 2. Sichuan New Hope Group, Chengdu 610041, China;

3. Guangdong Vocational College of Science and Trade, Guangzhou 510430, China;

4. Zhuhai Agricultural Research Center, Zhuhai 519070, China)

Abstract: 480 healthy 1-day-old male parent yellow-feathered chicken were assigned randomly into A and B groups, and each group had 6 pens (40 birds/pen). Group A were fed with wheat-based diet and Group B were fed with wheat based-diet with xylanase (1.2×10^4 U/kg diet). On day 16, two birds (closest to the mean weight) were selected from each replication. Sample of jejunum and ileum was collected for the determination of mRNA expression of cationic amino acid transporters. Xylanase significantly increased the expression abundance of rBAT and CAT4 mRNA in the jejunum of yellow-feathered chicken fed the wheat-based diet ($P < 0.05$) and had the trend to increase the expression abundance of y^+ LAT2 and CAT1 mRNA in jejunum ($P > 0.05$). It had no effect on the expression of rBAT mRNA in ileum but had the trend to increase the expression abundance of y^+ LAT2, CAT1 and CAT4 mRNA in ileum ($P > 0.05$).

Key words: chicken; intestine; xylanase; amino acid transporter; mRNA expression

研究证实,小麦型日粮添加木聚糖酶可降低水溶性木聚糖所导致的食糜黏性增高,从而提高消化酶对底物的作用效率;木聚糖酶可作用于不溶性 NSP,破碎植物细胞壁,释放出营养物质。此外,木聚糖酶还可消除因食糜黏性的增加而造成的肠道黏膜表面水层厚度增加^[1]。木聚糖酶的作用结果表现为提高了小麦型日粮营养物质的消化率,即提高了肠道食糜中可被吸收营养物质的量。高黏性的 NSP 可使肠道黏膜细胞分裂加速^[2]。而在肉鸡小麦型日粮中添加木聚糖酶,可减少肉鸡消化系统的代偿性增生,改善肠道绒毛形态^[3]。

在细胞的生长、发育和分化过程中,遗传信息的表达随着细胞内外环境的改变而加以调整,这就是适应性调控。底物浓度的提高和消化道形态结构的改善有可能会影响到肠道上皮细胞营养物质转运体的表达。本实验室之前的研究结果发现,木聚糖酶显著提高了小麦型日粮肉鸡第 3 周的生产性能及 16 日龄回肠氨基酸表观消化率及肠系膜静脉血清总氨基酸的含量,对碱性氨基酸赖氨酸、精氨酸和组氨酸的含量也都有较大幅度的提高^[4]。还不清楚木聚糖酶在提高肉鸡肠道可利用氨基酸的同时,是否还能上调氨基酸转运体的表达。在细胞适应性调控过程中,转录水平的调控是关键,因此 mRNA 的表达丰度决定了动物及细胞对内外环境条件改变的适应能力。特定的 mRNA 是由细胞在应答它所处的环境中合成的,细胞由此控制它所产生蛋白质的种类和数量。mRNA 表达的水平在一定程度上可以衡量其相关蛋白的表达量。本试验拟研究小麦型日粮中添加木聚糖酶对肉鸡肠道碱性氨基酸转运载体 mRNA 表达丰度的影响,从分子营养水平探讨木聚糖酶的相关作用机理。

1 材料与方法

1.1 试验动物与样品采集

1.1.1 试验动物 选用发育正常的 1 d 父母代雄性岭南黄肉雏鸡(购自广东省农业科学院畜牧研究所)480 只,按照体重一致的原则,随机分为 A、B 2 组,A 组为小麦-豆粕基础日粮组;B 组为小麦-豆粕基础日粮+0.1%木聚糖酶组(酶活 $\geq 12\ 000$ U/g)。每组 6 个重复,每个重复 40 只鸡。试验鸡的初始平均体重为(40.1 \pm 0.2)g。

1.1.2 日粮组成及营养水平 参照国家标准(1986)0~4 周龄肉鸡营养需要设计饲料配方,日粮

组成为:玉米 22.82%,小麦 50.00%,玉米蛋白粉 4.10%,豆粕 16.85%,秘鲁鱼粉 2.00%,石粉 0.68%,磷酸氢钙 1.57%,赖氨酸(78%)0.43%,蛋氨酸(98%)0.21%,食盐 0.24%,氯化胆碱(75%)0.10%,预混料 1.00%(每千克全价料提供:Cu 5.00 mg, Fe 69.00 mg, Zn 84.00 mg, Mn 98.6 mg, I 1.14 mg, Se 0.30 mg; VA 15 000 IU, VD₃ 3 000 IU, VE 25.5 mg, VK₃ 2.1 mg, VB₁ 2.4 mg, VB₂ 9 mg, VB₆ 5.1 mg, VB₁₂ 0.02 mg, 泛酸钙 12 mg, 烟酸 48 mg, 叶酸 1.2 mg, 生物素 0.06 mg, 洛克沙肿 50 mg, 盐霉素 90 mg)。营养水平:代谢能 12.12 MJ/kg,粗蛋白 20.00%,赖氨酸 1.10%,蛋氨酸 0.54%,蛋氨酸+胱氨酸 0.85%,钙 0.85%,有效磷 0.45%。

1.1.3 饲养管理与免疫 试验在华南农业大学动物科学学院种鸡场进行,粉料饲喂。红外取暖,自由饮水和采食,人工持续光照,保持正常育雏温度,常规免疫。

1.1.4 组织采样 于第 16 天每个重复选取 2 只接近平均体重的鸡(共 24 只),断颈宰杀,宰前不禁食。分离肠道,沿纵向剖开,用 4℃ 预冷的磷酸缓冲液(PBS)冲洗,再用吸水纸吸干。分别从十二指肠 U 状弯曲的结束处向下取 3 cm 肠段,从回盲结向上取 3 cm 肠段,分别作为空肠和回肠样品。放入 1.5 mL 离心管中,置液氮速冻,-70℃ 冷冻保存。

1.2 相对定量 RT-PCR (Semi-quantitative RT-PCR)

1.2.1 样品总 RNA 提取 采用 Trizol(北京赛百盛基因技术有限公司)一步抽提法提取组织样的总 RNA,紫外比色法测定总 RNA 的浓度和纯度(Eppendorf BioPhotometer 260 nm)。用 1.4% 甲醛变性琼脂糖凝胶电泳,根据 28S rRNA 和 18S rRNA 的灰度比评价 RNA 的质量。

1.2.2 反转录 分别准确量取 2 μ g 各样品的总 RNA 进行反转录,建立各样品 RNA 的 cDNA (RT product)。反转录反应体积为 30 μ L,其中含 Random(10)引物 5 μ mol/L,1 mmol/L dNTPs(北京赛百盛基因技术有限公司),20 U RNA 酶抑制剂(RNase inhibitor, TaKaRa, 大连),200 U 反转录酶(MMLV RT, Promega),5 μ L 5 \times RT Buffer (含 250 mmol/L Tris-HCl pH8.3,50 mmol/L MgCl₂, 250 mmol/L KCl, 50 mmol/L DTT, 2.5 mmol/L Spermidine)。样品总 RNA、Random(10)和

dNTPs 在反转录前 70℃ 变性 5 min, 冰上放置 5 min, 再加入其余试剂, 混匀后于 37℃ 反应 60 min, 95℃ 变性 5 min。反转录产物 (RT Products) -20℃ 保存备用。

1.2.3 目的基因引物设计和 PCR 反应条件 PCR

表 1 *rBAT*、*y⁺LAT2*、*CAT1*、*CAT4* 和 *β-actin* 基因引物参数

Table 1 Parameters of primer pairs for *rBAT*, *y⁺LAT2*, *CAT1*, *CAT4* and *β-actin* gene

目的基因 Target genes	引物位置/bp Localization	引物序列(5'-3') Primer sequence	产物长度/bp Product size
<i>rBAT</i> (SLC3A1) (XM 426125.1)	366-386	Sense CTACCAGGTCTACCCTCGTTC	414
	779-760	Antisense TTCCCATAGACACTCACCCA	
<i>y⁺LAT2</i> (SLC7A6) (XM 413988)	350-367	Sense CCTGATAGTAGGCAACAT	581
	930-912	Antisense AGAACAAGGCAGAGTAGAG	
<i>CAT1</i> (SLC7A1) (NW 060243)	1 014-1 032	Sense ATTTGGTGCTCGTGTTCTT	420
	1 433-1 413	Antisense TTGTAAATGTCCCGTTCAGTC	
<i>CAT4</i> (SLC7A4) (XM 424658)	682-700	Sense CTGGTGGGTAGTGACAAGA	433
	1 114-1 097	Antisense TGCCGTAGCCAAAGTAGA	
<i>β-actin</i> (XM 429312)	83-101	Sense TGCTGCGCTCGTTGTTGAC	291
	373-355	Antisense GGGTGCTCCTCAGGGGCTA	

扩增片段测序后在网站上进行 BLAST (Basic Local Alignment Search Tool), 结果显示目的基因序列与预测序列完全吻合, *rBAT*、*y⁺LAT2*、*CAT1* 和 *CAT4* 的扩增片段分别跨越了 3、2、2 和 2 个内含子, 从而避免了基因组污染的影响。

内标基因 *β-actin* Primers (10 μmol/L) 和 Competimers (10 μmol/L): 参照 Dieffenbach [5] 所提供的方法, 将 *β-actin* Primers 的 3' 端进行修饰 (北京赛百盛基因技术有限公司), 使其在 PCR 过程中只能

引物采用 Primer 软件设计, 由北京赛百盛基因技术有限公司合成, 引物序列及参数见表 1。以 *β-actin* 管家基因作为内标, 对目的基因进行相对定量分析。PCR 反应在 MJR PTC-200 PCR 仪上进行。

与模板结合而不能延伸, 得到 *β-actin* Competimers (NH₂-*β-actin*)。将 *β-actin* Primers 和 Competimers 均稀释至 10 μmol/L 备用。

PCR 反应条件: 采用单管法进行 PCR 扩增, 以混合样 (待测样品等比例混合) 对 PCR 反应条件、循环圈数以及内标基因 *β-actin* 与 *β-actin* Competimers 的比例等进行优化。*rBAT*、*y⁺LAT2*、*CAT1* 和 *CAT4* 基因 PCR 反应条件如表 2 所示 (25 μL 的反应体系)。

表 2 *rBAT*、*y⁺LAT2*、*CAT1* 和 *CAT4* 基因 PCR 反应条件

Table 2 PCR condition of *rBAT*, *y⁺LAT2*, *CAT1* and *CAT4*

基因 Genes	RT Products /μL	Buffer /μL	MgCl ₂ /μL	dNTPs /μL	<i>Taq</i> 酶 <i>Taqase</i> /μL	引物 Primers/μL	Annealing Temperature/℃	循环数 Circles
<i>rBAT</i>	2	2.5(KCl)	1.5	0.5	0.5	2	60.0	26
<i>y⁺LAT2</i>	2	2.5((NH ₄) ₂ SO ₄)	1.4	0.5	0.5	2	57.0	30
<i>CAT1</i>	2	2.5(KCl)	1.6	0.5	0.5	2	57.5	31
<i>CAT4</i>	2	2.5(KCl)	1.4	0.5	0.5	2	60.5	30

PCR 循环条件为: 94℃ 预变性 5 min; 94℃ 变性 30 s, 退火温度下 30 s, 72℃ 延伸 50 s; 72℃ 延伸 10 min。

电泳及灰度分析: 取 10 μL PCR 产物在 2.0%

EtBr 染色的琼脂糖凝胶上电泳。图象处理及灰度分析用 LabWorks Image Acquisition and Analysis Software 4.0 (Ultra-Violet Products Ltd., Cambridge, UK) 进行, 根据目的基因和 *β-actin* PCR 产

物的灰度比,确定样品中各基因表达的相对含量。每 1 个基因的检测,其 RT-PCR 过程至少重复 2 次,直到得到相同的结果。

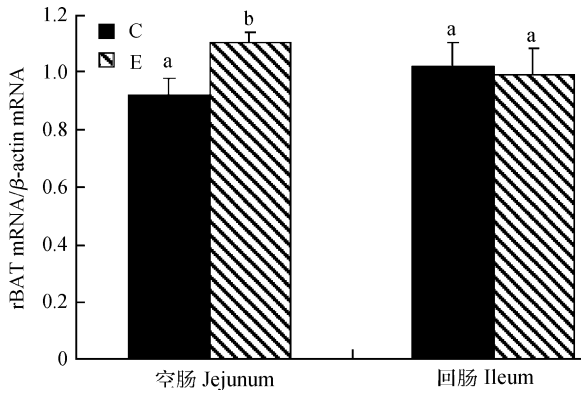
1.3 数据分析

试验数据以平均数±标准误($\bar{x} \pm s$)表示。用 SPSS11.0 统计软件分析数据,差异显著性检验单因子方差分析(One-way ANOVA),以最小显著差数法(LSD)进行多重比较。

2 结果

2.1 木聚糖酶对肉鸡空肠和回肠 rBAT mRNA 表达的影响

木聚糖酶对肉鸡空肠和回肠 rBAT mRNA 表达的影响如图 1 所示。由图 1 可以看出,添加木聚糖酶显著提高了肉鸡空肠 rBAT mRNA 的表达丰度($P < 0.05$),而对回肠 rBAT mRNA 的表达没有显著影响($P = 0.829$)。



不同处理组目的基因相对于 β -actin mRNA 表达丰度的统计结果。数据用平均数±标准误表示。C. 对照组;E. 木聚糖酶组。无相同字母者表示不同处理差异显著($P < 0.05$); $n = 12$,下同

Results of statistical analysis for target gene mRNA abundances expressed as arbitrary units relative to β -actin mRNA. C. represents control group, E. represents xylanase group. Values are $\bar{x} \pm s$. Without the same letters indicate significant difference between two groups ($P < 0.05$). $n = 12$. The figures below are same

图 1 木聚糖酶对肉鸡空肠和回肠 rBAT mRNA 表达的影响

Fig. 1 Effect of xylanase on the expression of rBAT mRNA in jejunum and ileum

2.2 木聚糖酶对肉鸡空肠和回肠 y^+ LAT2 mRNA 表达的影响

由图 2 可以看出,添加木聚糖酶肉鸡空肠和回

肠 y^+ LAT2 mRNA 的表达丰度分别比对照组提高了 20.77% 和 17.6%,但差异均未达到显著水平($P > 0.05$)。

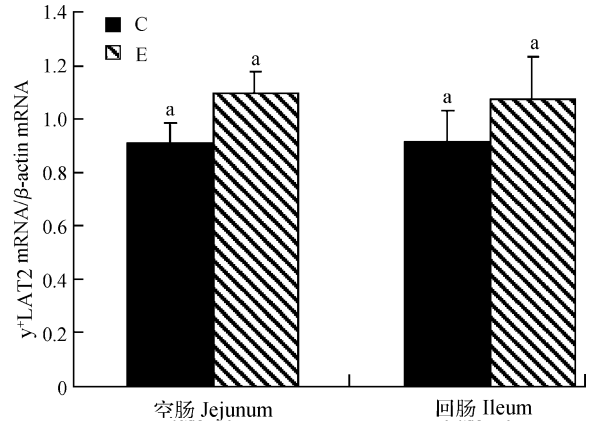


图 2 木聚糖酶对肉鸡空肠和回肠 y^+ LAT2 mRNA 表达的影响

Fig. 2 Effect of xylanase on the expression of y^+ LAT2 mRNA in jejunum and ileum

2.3 木聚糖酶对肉鸡空肠和回肠 CAT1 mRNA 表达的影响

由图 3 可以看出,添加木聚糖酶肉鸡空肠和回肠 CAT1 mRNA 的表达丰度分别比对照组提高了 12.58% 和 17.56%,但差异均未达到显著水平($P > 0.05$)。

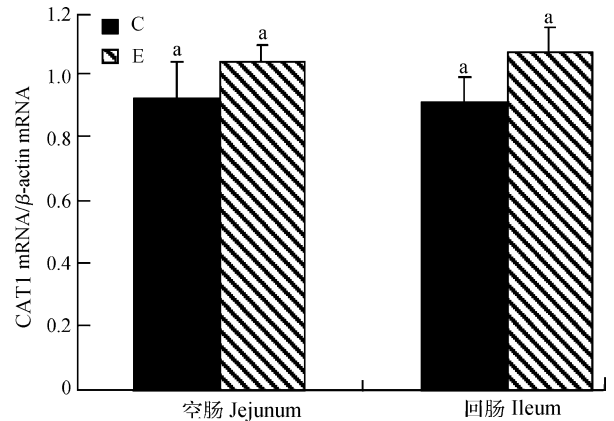


图 3 木聚糖酶对肉鸡空肠和回肠 CAT1 mRNA 表达的影响

Fig. 3 Effect of xylanase on the expression of CAT1 mRNA in jejunum and ileum

2.4 木聚糖酶对肉鸡空肠和回肠 CAT4 mRNA 表达的影响

由图 4 可以看出,添加木聚糖酶显著提高了肉鸡空肠 CAT4 mRNA 的表达丰度($P < 0.05$);回肠

CAT4 mRNA 的表达提高了 13.35%，但差异未达到显著水平($P = 0.474$)。

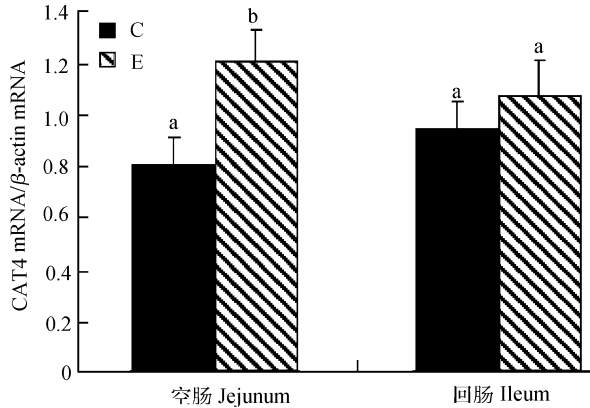


图4 木聚糖酶对肉鸡空肠和回肠 CAT4 mRNA 表达的影响

Fig. 4 Effect of xylanase on the expression of CAT4 mRNA in jejunum and ileum

3 讨论

动物肠道上皮细胞在机体内的代谢非常活跃。上皮细胞的发育从未成熟的隐窝细胞(Crypt cell)开始,经过内细胞分化,不断生长到隐窝绒毛的顶端;这个过程大概需要2~4 d,最终通过细胞凋亡而脱落到肠腔中。肠道在逆性条件下,如肠腔黏膜损伤、营养不良等,内皮细胞可以通过复杂的调控过程以加速细胞生长,改变对营养物质的转运活性而适应这种变化^[6]。这种适应性表现为肠道吸收面积的增加和单个细胞转运能力的增强,以及肠道黏膜细胞生长的变化等。Southon 等报道,用含有75 g/kg的非纤维素 NSP 和24 g/kg的纤维素日粮饲喂大鼠,比饲喂只含有纤维素作为唯一 NSP 来源的半纯合日粮大鼠肠道黏膜细胞分裂快^[2]。在细胞水平上,上皮细胞微绒毛的高度和密度增加,增大了吸收的表面积。在分子水平上,黏膜刷状缘(Brush-border membrane)负责营养物质转运的载体合成增加,使其转运能力增强^[7]。肠腔中营养物质的吸收,主要依赖于上皮细胞刷状缘和基底膜不同的载体转运系统,这些转运系统由不同的转运载体所组成,转运载体的数量和活性受到激素、日粮营养及神经内分泌等因素的调控^[8]。

Humphrey 等指出,动物组织对于饲料成分以及营养水平变化的适应性反应主要表现在这些营养物质转运载体类型和数量的变化^[9]。通过体外培养

人肠道上皮细胞的试验发现,在营养缺乏的情况下,细胞对谷氨酰胺、亮氨酸的转运降低,降低了 V_{max} 而不影响 K_m 值,结果说明营养缺乏降低了细胞膜上转运载体的数量,而转运载体的活性则没有改变。体外培养肠道上皮细胞(Caco-2 细胞系),在营养缺乏的情况下(用磷酸盐缓冲液培养),细胞碱性氨基酸转运载体 ATB^0 mRNA 的表达显著降低^[10]。

木聚糖酶可以消除木聚糖所造成的高黏性食糜,提高肉鸡对小麦型日粮氨基酸的消化率,对肠道发育也有一定的影响^[3,11-13]。于旭华研究表明,在小麦型日粮中添加木聚糖酶,使肉鸡小肠绒毛变短,而且绒毛顶端变细,木聚糖酶降低了小肠绒毛的代偿性增生^[3]。王修启研究表明,在 AA 肉鸡小麦型日粮中添加木聚糖酶,可以上调位于刷状缘的钠/葡萄糖共转运载体 1(SGLT1)mRNA 在十二指肠的表达丰度,并推测木聚糖酶可能通过影响内分泌的变化来增加小肠上段 SGLT1 的数量^[13]。由此可以推测木聚糖酶可能影响肠道黏膜细胞氨基酸转运载体的表达,从而增强黏膜细胞对氨基酸的吸收。由于细胞对于内外环境的变化可以做出适应性调节,表现为相关基因表达的改变。研究黏膜细胞氨基酸转运载体基因表达的变化,可以直接研究其在黏膜上蛋白质的表达量,也可以研究其 mRNA 的表达丰度,一般认为 mRNA 的表达丰度代表了动物及细胞对内外环境条件改变的适应能力。Dave 等发现小鼠不同肠段 $b^{0,+}AT$ 和 y^+LAT1 在 mRNA 水平和蛋白水平上的表达是一致的^[14]。2004 年鸡的基因组测序完成,相关氨基酸转运蛋白的 mRNA 序列陆续公布,使得可以从基因水平来研究氨基酸转运载体的变化。

肠道对于碱性氨基酸的吸收主要是通过肠道上皮细胞膜上的氨基酸转运系统 y^+ 、 $b^{0,+}$ 、 y^+L 以及中性氨基酸转运系统协同作用来实现的。碱性氨基酸转运系统 $B^{0,+}$ 在肠道不发挥主要的转运功能,然而在肠道后段(结肠),其转运蛋白 $ATB^{0,+}$ 有较高水平的表达,转运由肠道微生物产生的 D 型氨基酸^[15-16]。在肠道上皮细胞的碱性氨基酸转运系统中,系统 $b^{0,+}$ 和系统 y^+L 分别位于上皮细胞的刷状缘和基底膜,负责碱性氨基酸的吸收和转出。系统 y^+ 的(CAT1 和 CAT4)主要功能可能是维持细胞内碱性氨基酸代谢的正常水平,在肠道碱性氨基酸吸收过程中不起主要的功能^[17]。本研究发现,木聚糖酶显著提高了空肠刷状缘 $b^{0,+}$ 系统 rBAT mRNA

的表达丰度,而对于基底膜的 y^+ LAT2 mRNA 的表达丰度没有影响,说明木聚糖酶对肠腔面生理的影响较大。王修启在研究木聚糖对肉鸡肠道葡萄糖转运载体 mRNA 表达的影响时也发现只上调了刷状缘 SGLT1 mRNA 的表达,而对于基底膜 GLUT2 mRNA 的表达没有显著影响^[13]。木聚糖酶对于空肠系统 y^+ 的 CAT4 mRNA 表达也显著提高,可能原因是 CAT4 主要分布在黏膜细胞的刷状缘,但还没有直接的证据。木聚糖酶对于小肠远端(回肠)碱性氨基酸转运系统相关基因表达的影响没有近端(空肠)显著,这表明日粮营养对碱性氨基酸转运载体的影响在小肠前端大于后端,其确切的生理意义值得进一步探讨。

参考文献:

- [1] JOHNSON I T, GEE M. Effect of gel-forming gums on the intestinal unstirred layer and sugar transport *in vitro* [J]. *Gut*, 1981, 22:398-403.
- [2] SOUTHON S, LIVESEY G, GEE J M, et al. Differences in intestinal protein synthesis and cellular proliferation in well-nourished rats consuming conventional laboratory diets [J]. *British Journal of Nutrition*, 1985, 53: 87-95.
- [3] 于旭华. 真菌性和细菌性木聚糖酶对肉鸡生长性能的影响及机理研究 [D]. 广州:华南农业大学,2004.
- [4] 谭会泽. 肉鸡肠道碱性氨基酸转运载体 mRNA 表达的发育性变化及营养调控 [D]. 广州:华南农业大学,2006.
- [5] DIEFFENBACH C W. PCR 技术实验指南 [M]. 北京:科学出版社(影印本),2004.
- [6] ZIEGLER T R, MANTELL M P, CHOW J C, et al. Intestinal adaptation after extensive small bowel resection differential changes in growth and insulin-like growth factor system messenger ribonucleic acids in jejunum and ileum [J]. *Endocrinology*, 1998, 139: 3 119-3 126.
- [7] URIBE J M, BARRETT K E. Nonmitogenic actions of growth factors-an integrated view of their role in intestinal physiology and pathophysiology [J]. *Gastroenterology*, 1997, 13:255-268.
- [8] EDWARD C, RAY M D, NELLY E, et al. Growth factor regulation of enterocyte nutrient transport during intestinal adaptation [J]. *The American Journal of Surgery*, 2002, 183:361-371.
- [9] HUMPHREY B D, STEPHENSEN C B, CALVERT C C, et al. Glucose and cationic amino acid transporter expression in growing chickens (*Gallus gallus domesticus*) [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology. Part A, Molecular & Integrative Physiology*, 2004, 138:515-525.
- [10] WASA M, WANG H S, SHIMIZU Y, et al. Amino acid transport is down-regulated in ischemic human intestinal epithelial cells [J]. *Biochimica Biophysica Acta*, 2004, 1 670:49-55.
- [11] HEW L I, RAVINDRAN V, MOLLAH Y, et al. Influence of exogenous xylanase supplementation on apparent metabolisable energy and amino acid digestibility in wheat for broiler chickens [J]. *Animal Feed Science and Technology*, 1998, 75:83-92.
- [12] STEENFELD S, HAMMERSHJ M, MULLERTZ A, et al. Enzyme supplementation of wheat-based diets for broiler. II Effect on apparent metabolisable energy content and nutrient digestibility [J]. *Animal Feed Science and Technology*, 1998b, 75:45-64.
- [13] 王修启. 小麦中的抗营养因子及木聚糖酶提高小麦日粮利用效率的作用机理研究 [D]. 南京:南京农业大学,2003.
- [14] DAVE M H, SCHULZ N, ZECEVIC M, et al. Expression of heteromeric amino acid transporters along the murine intestine [J]. *Journal of Physiology*, 2004, 558:597-610.
- [15] UGAWA S, SUNOUCHI Y, UEDA T, et al. Characterization of a mouse colonic system B(0+) amino acid transporter related to amino acid absorption in colon [J]. *American Journal of Physiology*, 2001, 281:G365-370.
- [16] HATANAKA T, HUANG W, NAKANISHI T, et al. Transport of D-serine via the amino acid transporter ATB^(0,+) expressed in the colon [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2002, 291:291-295.
- [17] DANIEL H. Molecular physiology of plasma membrane transporters for organic nutrients [M]// Zemlpeni J, Daniel H, ed. *Molecular Nutrition*, Cambridge, MA: CABI Publishing, 2003: 21-90.