

猪肠道碱性氨基酸转运载体(CAT1)mRNA 表达的组织特异性和发育性变化

周响艳^{1,2}, 左建军¹, 职爱民¹, 张常明¹, 黄志毅¹, 张艳¹, 王修启¹, 冯定远^{1*}

(1. 华南农业大学动物科学学院, 广州 510642; 2. 山东亚太中惠集团, 潍坊 261061)

摘要: 本研究旨在探讨不同品种猪肠道碱性氨基酸转运载体(CAT1)mRNA 表达的组织特异性和发育规律。试验选取 1、7、26、30、60、90 和 150 日龄长白和蓝塘公猪各 5 头(同一品种同一日龄且体重接近), 共 70 头, 测体重后屠宰, 采集十二指肠、空肠、回肠和结肠组织样品。以 18S 基因为内标, 用实时荧光定量 RT-PCR 法(SYBR Green I 试剂盒)检测 CAT1 mRNA 在 60 日龄长白猪十二指肠、空肠、回肠和结肠表达的组织特异性, 以及在长白和蓝塘猪不同日龄其十二指肠、空肠、回肠表达的发育性变化。结果显示: 60 日龄长白猪 CAT1 mRNA 的表达丰度从十二指肠到回肠呈逐渐升高的趋势, 到结肠开始下降, 回肠极显著高于其他 3 个肠段($P < 0.01$), 十二指肠最低; 十二指肠和空肠 CAT1 mRNA 的表达在 1~26 d(即哺乳期)都呈上升的趋势, 随后都开始有所下降; 蓝塘猪十二指肠 CAT1 mRNA 的表达丰度在 150 d 时显著低于其他各个阶段($P < 0.05$), 而长白猪 90 和 150 d 都显著低于其他各阶段($P < 0.05$); 空肠 CAT1 mRNA 的表达在 26~150 d 各阶段都差异不显著, 而 26 d 显著高于 1 和 7 d($P < 0.05$); 1~60 d 长白和蓝塘猪回肠 CAT1 mRNA 的表达都呈逐渐上升的趋势, 60 d 后都显著下降($P < 0.05$)。两品种猪不同日龄时十二指肠和空肠 CAT1 mRNA 的表达量都没有显著差异($P > 0.05$); 长白猪回肠 CAT1 mRNA 表达在 26 d 时显著高于蓝塘猪($P < 0.05$); 在 90 和 150 d 时, 长白猪都显著低于蓝塘猪($P < 0.05$), 其他各阶段没有显著差异。结果说明, CAT1 mRNA 在不同肠段及不同发育阶段的表达存在明显的差异, 这可能与肠腔中氨基酸的浓度和氨基酸的需要水平及相关激素水平有关。

关键词: 猪; 碱性氨基酸转运载体; 实时荧光定量 RT-PCR; 发育规律

中图分类号: S852.2

文献标识码: A

文章编号: 0366-6964(2008)02-0170-06

Segmental Distribution and Ontogenetic Regulation of Cationic Amino Acid Transporter mRNA Expression in the Small Intestine of Pigs

ZHOU Xiang-yan^{1,2}, ZUO Jian-jun¹, ZHI Ai-min¹, ZHANG Chang-ming¹,
HUANG Zhi-yi¹, ZHANG Yan¹, WANG Xiu-qi¹, FENG Ding-yuan^{1*}

(1. College of Animal Science, South China Agricultural University,
Guangzhou 510642, China; 2. Shandong Yataizhonghui Group, Weifang 261061, China)

Abstract: Segmental distribution and ontogenetic regulation of cationic amino acid transporter 1 (CAT1) mRNA expression was evaluated in pigs along the horizontal axis of the intestine. A total of 35 littermate purebred Lantang gilts and 35 littermate purebred Landrace gilts were divided into seven groups at the ages of d 1, 7, 26, 30, 60, 90 and 150, respectively. Intestinal segments (duodenum, jejunum, ileum and colon) were collected. The CAT1 mRNA abundance was determined by real-time RT-PCR using SYBR Green I RT-PCR mix Kit. Results indicated that the CAT1 mRNA levels in Landrace pigs at day 60 were increased from the proximal to distal part of the small intestine ($P < 0.05$) and dropped dramatically in colon ($P < 0.05$). The ileum had

收稿日期: 2007-03-05

基金项目: 国家重点基础研究发展计划项目(2004CB117501)

作者简介: 周响艳(1974-), 女, 博士, 主要从事动物分子营养研究

* 通讯作者: 冯定远, 教授, 博导, E-mail: fengdy@scau.edu.cn

the highest CAT1 mRNA abundance and the colon had the lowest. During the sucking period (day 1 to 26), the CAT1 mRNA abundances in duodenum and jejunum were increased and dropped with age after weaning. The CAT1 mRNA abundances of Lantang pigs at day 150 were significant lower than that at other ages ($P < 0.05$) and the CAT1 mRNA abundances of Landrace pigs at day 90 and 150 were significant lower than that at other ages ($P < 0.05$). However, there is no difference between day 26 and 150 in the jejunum CAT1 mRNA abundance. And the pigs at day 26 have a higher CAT1 mRNA abundance than that at day 1 and 7 ($P < 0.05$). For ileum, CAT1 mRNA in the Landrace and Lantang pigs increased during day 1 to 60, and then dropped ($P < 0.05$). There is no significant difference ($P > 0.05$) between the CAT1 mRNA abundance of Landrace and Lantang pigs in duodenum and jejunum. For ileum, the CAT1 mRNA abundance of Landrace at day 26 was significant higher than that of Lantang pigs ($P < 0.05$), however, at day 90 and 150 were both lower than that of Lantang pigs ($P < 0.05$). In conclusion, the mRNA expression of CAT1 was not only differentially regulated by age but also differentially distributed along the small intestine of piglets at early stages and growing stages of life, which may be related to luminal substrate concentration as well as amino acid requirement and hormone.

Key words: pig; cationic amino acid transporter; real-time RT-PCR; ontogenetic regulation

营养物质是通过其相应的转运载体介导穿过细胞膜的,这些转运载体即跨膜蛋白具有底物、动力学特性和组织表达特异性,根据这些特性来协助营养物质在不同组织中的分配。氨基酸通过许多独立的转运系统来跨膜转运^[1],氨基酸转运的紊乱将导致代谢的失控^[2]。

赖氨酸和精氨酸等必需氨基酸为主的碱性氨基酸转运类型有 4 种:系统 y^+L 和 $b^{0,+}$, Na^+/Cl^- 依赖性的系统 $B^{0,+}$ 及阳离子氨基酸转运家属(CAT 家属)系统 y^+ ^[3]。哺乳动物的 CAT 家属系统 y^+ 有 4 个成员,即 CAT1~4,其中 CAT1~3 具有 60% 左右的同源性,而与 CAT4 只有 40% 左右的同源性^[4-5]。CAT 家属系统 y^+ 是大多数组织利用赖氨酸和精氨酸的主要转运系统^[6-7]。系统 y^+ 是典型的、广泛存在的非钠依赖性的阳性氨基酸转运系统,在 Na^+ 存在的条件下,也可以转运中性氨基酸,它对碱性氨基酸有很高的亲和力(K_m 值在 mmol 水平),对中性氨基酸的亲和力很低。该系统依靠与细胞质膜的化学电势偶联来转运并聚集底物^[8]。谭会泽等研究发现,黄羽肉鸡结直肠 CAT1 mRNA 的表达丰度最高,而回肠也极显著高于空肠和十二指肠($P < 0.01$)^[9-10];且黄羽肉鸡和 AA 肉鸡之间 CAT1 mRNA 表达的发育性变化具有显著差异^[10]。本试验选用 CAT1 y^+ 系统的 CAT1 为代表来研究 CAT1 mRNA 在猪肠道表达的组织特异性和发育性变化,为进一步深入研究碱性氨基酸在肠道的吸收机理及

其转运载体的表达和分布情况提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验动物及样品采集

选取体况一致的长白和蓝塘公猪各 35 头。于 1、7、26、30、60、90 和 150 日龄各随机选取 5 头,称重后颈动脉放血至死(宰前不禁食),剥离肠段,从十二指肠 U 状弯曲的起始处和结束处向下各取 3 cm 肠段,分别作为十二指肠和空肠样品;从回盲韧带起始处和回盲结分别向下取 3 cm 肠段,作为回肠和结直肠样品,迅速放入 1.5 mL 离心管中,置液氮速冻, $-70^{\circ}C$ 冷冻保存备用。

1.2 主要试剂和仪器

Trizol Reagent Kit(北京赛北盛公司),MMLV 逆转录酶,SuperScriptTM First-Stand Synthesis for RT-PCR(Invitrogen),dNTPs Mixture(TaKaRa 公司),DEPC, RNA 酶(Sigma),Taq DNA 聚合酶,Ribonuclease Inhibitor (TaKaRa 公司),DL-2000 Marker(宝生物工程公司),pEGM-T Vector,ABI 7500 型实时荧光定量 PCR 仪(美国 ABI 公司)。

1.3 RNA 抽提

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,总 RNA 经纯化后(除去 RNA 中的 DNA)用紫外比色法检测 RNA 的浓度(Eppendorf BioPhotometer 260 nm),将 RNA 统一稀释至 $0.5 \mu g/\mu L$ 。

1.4 引物设计

用持家基因,即 18S 基因作为内标。从 GenBank 检索猪 CAT1 和 18S 序列,用 Premier 5.0 软

件设计引物(表 1),由上海英骏生物技术有限公司合成。

表 1 CAT1 和 18S 引物参数
Table 1 Parameters of primer pairs for CAT1 and 18S gene

基因 Genes	引物序列(5'-3') Primer sequences	退火温度/°C Anneal temperature
CAT1 (SLC7A1)	F: TGCCATACTTCCCGTCC	58
	R: GGTCCAGGTTACCGTCAG	
18S	F: AATTCGATAACGAACGAGACT	58
	R: GGACATCTAAGGCATCACAG	

1.5 常规 PCR 扩增

1.5.1 cDNA 第一条链的合成 用随机引物对总 RNA 进行 cDNA 第一条链的合成即反转录,反应体系为 20 μ L: dNTPs(each 10 mmol/L) 3 μ L, 随机引物 3 μ L, 模板 4 μ g, 加 DEPC 水至 15 μ L, 在 75°C 反应 5 min, 4°C 10 min, 再加入 5 \times buffer 6 μ L, RNAsin(40 U/ μ L) 0.5 μ L, MMLV 反转录酶(5 U/ μ L) 1 μ L, 加 DEPC 处理水至 20 μ L。37°C 75 min; 95°C 5 min; 冰浴 10 min, -20°C 保存备用。

1.5.2 cDNA 的 PCR 反应及产物回收 反应体系为 25 μ L: 反转录产物 2 μ L, Taq DNA 聚合酶(5 U) 0.5 μ L, 10 \times buffer 2.5 μ L, dNTPs 0.5 μ L, MgCl₂ 1.5 μ L, 上游和下游引物共 2 μ L, 加 DEPC 水至 25 μ L。PCR 循环, 94°C 预变性 5 min; 然后 94°C 变性 30 s, 58°C 退火 30 s, 72°C 延伸 45 s, 35 个循环; 72°C 再延伸 10 min。

PCR 产物用 1.5% 琼脂糖电泳分离, 回收目的片段, 用 V-gene DNA 凝胶回收试剂盒纯化。

1.6 克隆测序

回收的 DNA 片段与 pGEM-T Easy Vectors 连接, 连接反应产物转化宿主菌 DH5 α 感受态细胞。用 V-gene 质粒 DNA 提取试剂盒提取质粒, PCR 鉴定后, 送上海英骏生物技术有限公司测序。

1.7 实时荧光定量 PCR

每个样品做 2 个重复, 将克隆目的片段的质粒梯度稀释后作为标准品, 制作标准曲线。反应体系为 20 μ L: SYBR Green Mix 10 μ L, 反转录模板 0.8 μ L, 上游和下游引物共 0.4 μ L, 加 DEPC 水至 20 μ L。

充分混匀, 短暂离心, 置于 ABI 7500 型实时荧

光定量 PCR 仪中按下列程序进行热循环: 95°C 变性 5 min; 95°C 变性 20 s, 58°C 退火 20 s, 72°C 延伸 20 s, 共 40 个循环; 最后 72°C 延伸 4 min。58°C 收集荧光信号。

荧光定量分析采用相对定量的方法进行, 为了消除起始样本量不同对定量分析的影响, 以 18S 基因的表达量对各检测基因的表达作了修正, 即对样本中 18S 基因的含量同时进行定量分析, 样本中各基因的表达量除以 18S 的表达量, 即为该基因的实际表达水平。

1.9 统计分析

试验数据以平均数 \pm 标准误表示。用 SPSS (11.0) 统计软件分析数据。用单因子方差分析(one-way ANOVA) 进行差异显著性检验, 采用最小显著差数法(LSD) 进行多重比较。

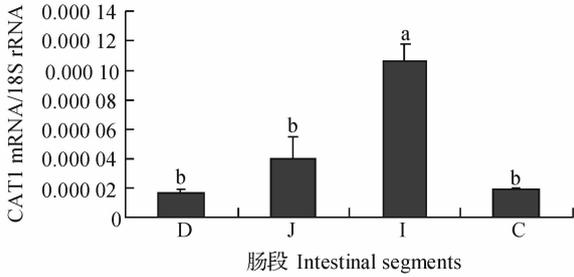
2 结果与分析

2.1 猪 18S 和 CAT1 基因克隆质粒测序

将 18S 和 CAT1 基因扩增片段克隆于 pGEM-T Easy Vectors 并测序, 用 DNASTar 对 18S 和 CAT1 基因扩增片段的测序结果与引物设计序列进行比较, 结果表明, 18S、CAT1 基因扩增片段的序列都与引物设计源序列的同源性为 100%。表明其 PCR 扩增片段为特异性 18S cDNA 和 CAT1 cDNA。

2.2 CAT1 mRNA 表达的组织特异性

从图 1 可以看出, 回肠 CAT1 mRNA 的表达丰度极显著高于十二指肠、空肠和结肠($P < 0.01$), 十二指肠表达丰度最低, 但与空肠和结肠间差异都不显著($P > 0.05$)。



各肠段目的基因相对于 18S rRNA 的表达丰度统计结果;数据均呈正态分布,用平均数±标准误差表示。图上标注无相同字母者表示差异显著($P < 0.05$),LSD 法比较。 $n=5$,D. 十二指肠;J. 空肠;I. 回肠;C. 结肠

Statistical result of target gene mRNA level expressed as arbitrary units to 18S rRNA; The datum are in normally distributed and are shown as $\bar{x} \pm SE$. Without the same letters indicate significant difference between different intestinal segments ($P < 0.05$). $n=5$, D. Duodenum; J. Jejunum; I. Ileum; C. Colon

图 1 肠道 CAT1 mRNA 表达的组织特异性

Fig. 1 Tissue-specific expression of CAT1 mRNA in different intestinal segments

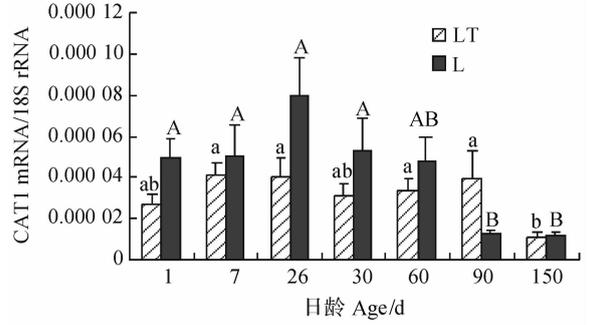
2.3 十二指肠 CAT1 mRNA 表达的发育性变化

由图 2 可知,蓝塘和长白猪十二指肠 CAT1 mRNA 的表达发育模式相似,1~26 d CAT1 mRNA 的表达均呈上升趋势,但差异都不显著($P > 0.05$),30~150 d 长白猪呈下降趋势,且在 90 和 150 d 时显著低于其他各个阶段($P < 0.05$);蓝塘猪在 30~90 d, CAT1 mRNA 的表达没有明显差异,在 150 d 时显著低于其他各个阶段($P < 0.05$)。断奶前后即 26 和 30 d 比较,都有所下降,但差异不显著($P > 0.05$)。

不同品种猪间的十二指肠 CAT1 mRNA 在不同时期的表达量有差异,除 90 d 外,其他各个阶段,长白猪 CAT1 mRNA 的表达丰度都高于蓝塘猪,但差异不显著($P > 0.05$)。

2.4 空肠 CAT1 mRNA 表达的发育性变化

由图 3 可知,长白和蓝塘猪空肠 CAT1 mRNA 的表达发育模式基本类似,且分别与十二指肠 CAT1 mRNA 表达的发育模式也相似。两个品种猪空肠 CAT1 mRNA 表达在 1~26 d 都呈上升趋势,到 26 d 时达到最高,且显著高于 1 和 7 d ($P < 0.05$),随后开始略有下降,到 90 d 后又稍有回升,但 26~150 d 各阶段的差异都不显著($P > 0.05$);断奶后(即 30 d)比断奶前(即 26 d)稍有下降,差异都不显著($P > 0.05$)。



数据用平均值±标准误差表示,LT. 蓝塘猪;L. 长白猪。无相同字母者(大写字母,长白猪;小写字母,蓝塘猪)表示同一品种不同日龄之间差异显著($P < 0.05$);图上标注无相同字母者表示差异显著($P < 0.05$,LSD 法比较)。 $n=5$ 。下同

L. represents Landrace pig; LT. represents Lantang pig; Values are $\bar{x} \pm SE$. Without the same letters (capital letters for Landrace and lower case letters for Lantang pigs) indicate significant difference between days in the same breed ($P < 0.05$). $n=5$. The same as below

图 2 长白和蓝塘猪十二指肠不同时期 CAT1 mRNA 表达的相对丰度

Fig. 2 The relative abundance of CAT1 mRNA expression in different days of duodenum in Landrace and Lantang pigs

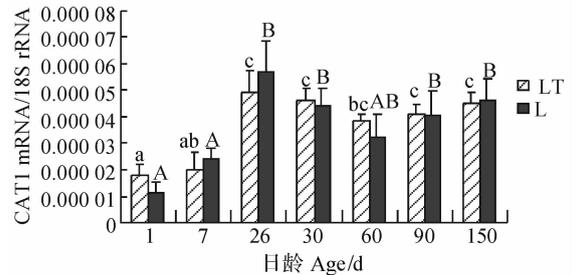


图 3 长白和蓝塘猪空肠不同时期 CAT1 mRNA 表达的相对丰度

Fig. 3 The relative abundance of CAT1 mRNA expression in different days of jejunum in Landrace and Lantang pigs

不同品种猪间不同时期空肠 CAT1 mRNA 的表达量都无显著差异($P > 0.05$),1 和 30~150 d 各阶段,蓝塘猪都略高于长白猪,7 和 26 d 都稍低于长白猪。

2.5 回肠 CAT1 mRNA 表达的发育性变化

由图 4 可知,长白和蓝塘猪回肠 CAT1 mRNA 表达的发育模式类似,且不同于十二指肠和空肠 CAT1 mRNA 表达的发育模式。1~60 d 回肠

CAT1 mRNA 表达量都呈逐渐上升的趋势,蓝塘猪在 30 d 显著升高($P < 0.05$),60 d 显著高于前 4 个阶段($P < 0.05$),长白猪在 26 d 显著提高($P < 0.05$),60 d 显著高于 1、7 和 26 d($P < 0.05$);90 d 都比 60 d 显著下降($P < 0.05$),蓝塘猪在 150 d 略有回升($P > 0.05$),长白猪在 150 d 略有下降($P > 0.05$)。

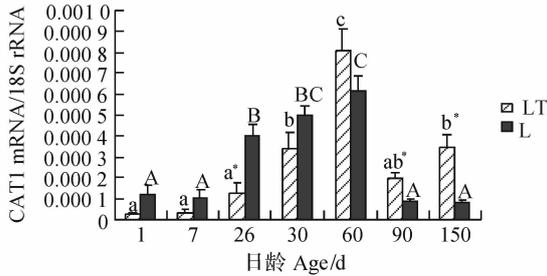


图 4 长白和蓝塘猪回肠不同时期 CAT1 mRNA 表达的相对丰度

Fig. 4 The relative abundance of CAT1 mRNA expression in different days of ileum in Landrace and Lantang pigs

不同品种猪间不同时期回肠 CAT1 mRNA 表达量有差异,1~30 d 长白猪回肠 CAT1 mRNA 表达都高于蓝塘猪,其中在 26 d 时达到显著水平($P < 0.05$);60~150 d 长白猪都低于蓝塘猪,且在 90 和 150 d 时达到显著水平($P < 0.05$)。

3 讨论

氨基酸转运系统 y^+ 在动物组织中广泛存在,它是细胞中典型的为数极少的单向转运系统^[6],其转运驱动力主要是膜两侧的电势差,因此 y^+ 系统对维持细胞内碱性氨基酸浓度起重要作用。

关于猪肠道中氨基酸转运载体 mRNA 表达的组织特异性研究至今未见报道。而有报道称兔小肠黏膜细胞不同氨基酸转运载体 mRNA 的表达从空肠到回肠逐渐升高^[11],这与本研究的结果完全一致,且回肠极显著高于空肠($P < 0.01$)。Dave 等^[12]以三磷酸甘油醛脱氢酶(GAPDH)mRNA 做内标,研究小鼠肠道不同氨基酸转运载体 mRNA 表达时发现,rBAT mRNA 在小肠的表达呈升高趋势,即回肠高于空肠,空肠高于十二指肠,十二指肠高于结肠,与本试验的结果完全一致;但与谭会泽^[9-10]的研究结果,即“30 日龄黄羽肉鸡 CAT1 mRNA 表达丰度结肠极显著高于十二指肠、空肠和回肠($P <$

0.01)”完全不一致。这是否是由于物种不同而导致这样的结果还不清楚。Anderle 等^[13]用高密度基因芯片研究了鼠科动物十二指肠、空肠、回肠、结肠中 76% 已知转运载体 mRNA 的表达丰度,结果发现结肠的表达情况显著不同于小肠,大部分转运载体 mRNA 在小肠段的表达水平一致。该结论与本研究结果完全相同。Elizabeth 等^[14]对黑熊肠道营养性转运载体 mRNA 表达丰度的组织特异性研究发现: $b^{0,+}$ AT 和 NBAT(rBAT) mRNA 表达丰度从肠道近端至远端呈线性增加($P < 0.05$),这与本研究结果基本一致,即 $b^{0,+}$ AT mRNA 的表达丰度从十二指肠到回肠逐渐升高。

氨基酸在肠道的吸收利用是通过氨基酸转运载体的介导来发挥作用的,动物在不同的生长发育阶段,对日粮氨基酸的需要不同,肠道对氨基酸的利用也不同,影响氨基酸在肠道吸收利用的因素非常复杂,但肠道中氨基酸转运载体在动物发育的不同阶段表达量变化的研究至今未见国内外的报道。本研究发现猪肠道氨基酸转运系统 y^+ 的 CAT1 mRNA 的表达丰度在不同时期发生着显著的变化,与谭会泽^[10]对肉鸡肠道 CAT mRNA 表达丰度的发育性变化研究的结果一致。本试验还发现,长白和蓝塘猪的十二指肠、空肠和回肠中 CAT1 mRNA 表达的发育性变化在哺乳期间(1~26 d)都有相似的规律,即呈上升的趋势,十二指肠和空肠在断奶后都呈下降的趋势,回肠中 CAT1 mRNA 表达在断奶后都一直升高至 60 d,长白猪在 60 d 后一直下降,蓝塘猪在 90 d 开始下降,150 d 有所回升,但差异不显著($P > 0.05$)。这些结果表明两个品种猪 CAT1 mRNA 在不同肠段表达的发育性变化基本相似,同一阶段的表达丰度有所差异,长白猪有高于蓝塘猪的趋势。

但由于肠道氨基酸转运系统的复杂性,氨基酸的吸收利用受肠细胞发育^[15]和肠道某种特定氨基酸的相对浓度和总浓度的影响^[16],而转运载体的浓度还受到肠道转运日粮中氨基酸的遗传性和表型适应性的影响^[17],因此,不同转运载体蛋白其 mRNA 表达的发育性变化不一定都一致。

4 结论

本试验结果揭示了猪肠道 CAT1 mRNA 表达的组织特异性和发育性变化,即 60 日龄长白猪 CAT1 mRNA 的表达丰度从十二指肠到回肠呈逐

渐升高的趋势,到结肠开始下降,且回肠表达丰度最高,而十二指肠最低;长白和蓝塘猪十二指肠、空肠和回肠中 CAT1 mRNA 表达的发育性变化存在相似的发育规律,但其 mRNA 表达的高峰时期及其下降幅度等存在差异,且 CAT1 mRNA 表达的发育性变化规律在猪不同肠段有差异。

参考文献:

- [1] PALACIN M, ESTEVEZ R, BERTRAN J, et al. Molecular biology of mammalian plasma membrane amino acid transporters [J]. *Physiology Review*, 1998, 78:969-1 054.
- [2] WAGNER C A, LANG F, BROER S. Function and structure of heterodimeric amino acid transporters [J]. *Am Physiol Cell Physiol*, 2001, 281: C1 077-1 093.
- [3] DEVES R, BOYD C A. Transporters for cationic amino acids in animal cells: discovery, structure and function[J]. *Physiol Rev*, 1998, 78:487-545.
- [4] SPERANDEO M P, BORSANI G, INCERTI B, et al. The gene encoding a cationic amino acid transporter (SLC7A4) maps to the region deleted in the velocardiocardiac syndrome[J]. *Genomics*, 1998, 49: 230-236.
- [5] WOLF S, JANZEN A, VEKONY N, et al. Expression of solute carrier amino acid transporter activity [J]. *Biochem*, 2002, 364:767-775.
- [6] BROER S, WAGNER C A. Structure-function relationships of heterodimeric amino acid transporters [J]. *Cell Biochem Biophys*, 2002, 36:155-168.
- [7] CLOSS E I, SIMON A, VEKONY N, et al. Plasma membrane transporters for arginine[J]. *Nutr*, 2004, 134: 2 752-2 759.
- [8] ROJAS A M, DEVES R. Mammalian amino acid transporter system y⁺L revisited: specificity and cation dependence of the interaction with neutral amino acids (Abstract) [J]. *Physiol*, 1997, 504: 137.
- [9] 谭会泽,王修启,苏海林,等. 鸡不同肠段碱性氨基酸转运载体 mRNA 表达的差异性研究[J]. *畜牧兽医学报*, 2007, 38(3):247-252.
- [10] 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.
- [11] MUNCK L K, MUNCK B G. The rabbit jejunal 'imino carrier' and the ileal 'imino acid carrier' describe the same epithelial function[J]. *Biochim Biophys Acta*, 1992, 1 116: 91-96.
- [12] DAVE M H, SCHULZ N, ZECEVIC M, et al. Expression of heteromeric amino acid transporters along the murine intestine[J]. *Physiol*, 2004, 558: 597-610.
- [13] ANDERLE P, SENGSTAG T, MUTCH D M, et al. Changes in the transcriptional profile of transporters in the intestine along the anterior-posterior and crypt-villus axes[J]. *BMC Genomics*, 2005, 6: 69-78.
- [14] ELIZABETH R, GILBERTT, ERIC A, et al. Distribution and abundance of nutrient transporter mRNA in the intestinal tract of the black bear[DB/OL]. *Ursus americanus*, *Comp Biochem Physiol PartB, dio*; 2006, 1 010-1 122.
- [15] SMITH M W. Genetic regulation of enterocyte differentiation[J]. *Proc Nutr So*, 1993, 52: 293-300.
- [16] HIRST B H. Dietary regulation of intestinal nutrient carriers[J]. *Proc Nutr Soc*, 1993, 52: 315-324.
- [17] FERRARIS R K, AHERAN G A. Sugar and amino acid transport in fish intestine [J]. *Review Comp Biochem*, 1984, 34:123-128.