

# 家禽营养与表观遗传学

喻小琼 赵桂苹 刘冉冉 郑麦青 文杰\*

(中国农业科学院北京畜牧兽医研究所, 动物营养学国家重点实验室, 北京 100193)

**摘要:** 过去几十年里, 达尔文创立的生物进化论及孟德尔确立的遗传学说为家禽选育及品种的改良奠定了理论基础, 并显著改善了禽肉品质, 提高了家禽生产力。尽管遗传选择能够主导亲代基因传递给后代, 但越来越多的证据表明营养等环境因素对基因表达具有重要的修饰作用。表观遗传学是研究在核苷酸序列不变的情况下, 基因表达的可遗传变化的一门遗传学分支学科。本文主要讨论了家禽营养对 DNA 甲基化的影响, 以及这种影响通过生殖细胞的表观遗传重塑可以成功地传递给后代的现象。

**关键词:** 家禽; 营养; 表观遗传; DNA 甲基化

**中图分类号:** Q38

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1006-267X(2013)10-2192-10

哺乳动物中, 母体“营养程序化”(nutritional programming)的概念普遍被人们所接受, 对于禽类, 母鸡可以通过蛋的成分变化来调控后代的表型, 并且可能对后代的个体形态和生产性能产生长远的影响。家禽被认为是研究营养程序化作用的模式动物, 饲料中能量水平、蛋白质水平、氨基酸组分的变化会影响母鸡的产蛋率、孵化率、后代的生长速度、脂质沉积等表型性状。在分子水平上, 营养物质可以通过改变表观基因组从而改变基因的表达和诱发表型变化。在有机体的生命过程中, 可出现多种表观遗传变化, 其中生殖细胞的表观遗传改变可以永久地改变生命活动进程, 并且某些信息可遗传给下一代, 从而产生表观表现型遗传代现象。

## 1 表观遗传学概念、特征及作用

Waddington<sup>[1]</sup>于1957年提出表观遗传学(epigenetics)的概念, 它是指在DNA序列不发生改变的情况下, 基因的表达和功能发生改变, 并且产生可遗传的表型的现象。表观遗传学主要包括2方面的内容, 分别为研究亲代营养环境因素导致子

代基因表达改变的基因转录过程的调控和基因转录后的RNA调控<sup>[2]</sup>。但是近年来研究又主要集中在DNA甲基化、组蛋白修饰、染色质重塑和非编码RNA等调控方式来控制表型从而影响基因表达等方面。表观遗传是渐变的而非突变的遗传过程, 这正是它与传统的遗传学特征相比具有的不同之处。另外, 它还具有细胞记忆传播能力(或隔代遗传力)及多能细胞空间和时间分化的显著特征<sup>[3]</sup>。

表观遗传学弥补了经典遗传学的不足, 成为生命科学研究的焦点之一, 随着研究的深入, 研究者逐渐认识到表观遗传性状往往都和营养、发育、分化、进化等生命过程密切相关。基因的表达决定表型, 而营养可以对基因的表达起调节作用。表观遗传学研究有助于解释携带相同核苷酸序列的细胞或有机体在不同营养物暴露下产生不同反应的现象。在家禽中, 营养的改变作用于基因, 从而引起细胞中DNA甲基化、组蛋白修饰或者染色质重塑等表观遗传的变化。邢晋祎<sup>[4]</sup>研究表明, 不管对肉鸡还是蛋鸡饲喂大量甜菜碱后, 鸡脂肪代谢相关基因脂蛋白脂肪酶(lipoprotein lipase,

收稿日期: 2013-04-19

基金项目: 营养学国家重点实验室自主研究课题(2004DA125184G1101); 国家肉鸡产业技术体系经费资助(CARS-42)

作者简介: 喻小琼(1988—), 女, 湖北武汉人, 硕士研究生, 从事分子营养学研究。E-mail: yuxiaoqiong2008@163.com

\* 通讯作者: 文杰, 研究员, 博士生导师, E-mail: wenj@iascaas.net.cn

*LPL*)和过氧化物酶体增植物激活受体(peroxisome proliferator-activated receptor, *PPAR*)的启动子区和编码区的 DNA 甲基化水平发生改变,且这种变化与 mRNA 表达量存在一定关系,但是这种改变机制是否与甜菜碱参与甲基化反应有关还需要进一步探索。

刘静波等<sup>[5]</sup>研究表明,妊娠期间母体蛋白质摄入不足可通过改变后代肝脏糖皮质激素受体(glicocorticoid receptor, *GR*)、*PPAR* 和酰基辅酶 A 氧化酶(*acyl-cooxidase*, *AOX*)基因启动子甲基化模式来调控它们的 mRNA 水平,在蛋白质摄入缺乏组添加叶酸后可维持基因启动子甲基化模式与正常组基本一致,从而缓解母体营养不良对后代个体肝脏基因 mRNA 表达的影响,该试验阐明了母体添加叶酸是预防胎儿后天生发育不良的分子机制。

## 2 营养物质与表观遗传学之间的关系

### 2.1 饲料营养素种类影响基因表达以及 DNA 甲基化

在营养学领域,表观遗传研究已经变得非常重要,因为营养和功能性饲料可以通过抑制或者激活催化 DNA 甲基化的酶,或者通过组蛋白修饰作用,改变基因表达,改变表观遗传,从而影响传代。大量动物试验研究表明,常量营养素(如脂肪和蛋白质)、微量营养素(如维生素)和天然生物活性化学物(如白藜芦醇、丁酸、萝卜硫素和大蒜二丙烯硫醚)都参与调控表观遗传。饲料中某些生物物质,如 S-腺苷甲硫胺酸(*S-adenosyl-L-methionine*, *SAM*)是一种甲基化反应的供体,*S-腺苷高半胱氨酸(S-adenosyl-L-homocysteine, SAH)*则是甲基转移酶(*DNA methyl-transferase, DNMT*)的产物抑制剂,通过作用于 *SAM* 或 *SAH*,从而改变 DNA 和组蛋白的甲基化水平<sup>[6]</sup>。另一些物质,如胆碱参与一碳单位代谢,则改变信号传导途径和染色质结构,从而间接影响基因的表达。一个研究毛色的试验结果显示,通过调控母鼠甲基营养供给(甜菜碱、胆碱、叶酸和维生素 *B<sub>12</sub>*),可使雄性隐形纯合子与雌性杂合子交配所生后代个体出现不同的毛色<sup>[7]</sup>。饲料成分与后代个体毛色以及 *A<sup>vy</sup>*基因甲基化模式之间的关系证明母体甲基营养代谢状况会影响个体的表现型。上述试验表明饲料是调节 *A<sup>vy</sup>*基因甲基化程度进而影响毛色的直

接媒介。*Waterland* 等<sup>[8]</sup>报道断奶后小鼠的饮食影响胰岛素样生长因子 2(*insulin-like growth factor-2, IGF2*)基因的甲基化状态及永久性影响 *IGF2* 基因的表达,饮食中缺乏叶酸、维生素 *B<sub>12</sub>* 等甲基供体时可导致成年鼠 *IGF2* 的基因印迹(*gene imprinting*)丢失,所以早期甲基供体的补充对 *IGF2* 的基因表达至关重要。

### 2.2 饲料营养水平影响基因表达以及 DNA 甲基化

#### 2.2.1 一碳单位代谢对 DNA 甲基化的影响

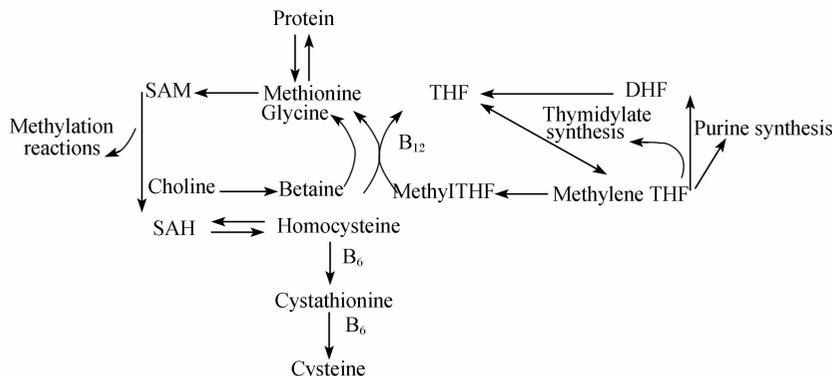
动物机体不能合成甲基,必须由饲料供给。DNA 甲基化过程取决于饲料中的甲基基团及辅酶,它们参与蛋氨酸及叶酸代谢<sup>[9-10]</sup>。蛋氨酸是一种必需氨基酸,而且是家禽的第一限制性氨基酸,必须由饲料提供,因此对畜禽非常重要<sup>[11]</sup>。其循环过程为:蛋氨酸首先转化为 *SAM*,在提供甲基基团后转化为 *SAH*,最后再转变为同型高半胱氨酸(*homocysteine, Hcy*)。一方面,*Hcy* 可以与丝氨酸在维生素 *B<sub>6</sub>* 依赖的  $\beta$ -胱硫醚合成酶催化下形成胱硫醚,经转硫反应生成半胱氨酸;另一方面,*Hcy* 在蛋氨酸合成酶(*methionine synthase, MS*)的作用下可被重新甲基化形成蛋氨酸。在该反应中,维生素 *B<sub>12</sub>* 作为辅因子,促使 5-甲基四氢叶酸(*N<sup>5</sup>-methyltetrahydrofolic acid, 5-CH<sub>3</sub>THF*)转换为四氢叶酸(*tetrahydrofolic acid, THF*),提供甲基。亚甲基四氢叶酸还原酶(*methylenetetrahydrofolate reductase, MTHFR*)催化辅因子循环利用的反应存在于大多数细胞中并影响 DNA 甲基化,在一碳单位代谢中具有重要意义(图 1)。

#### 2.2.2 叶酸等相关 B 族维生素与 DNA 甲基化的关系

叶酸是一种重要的 B 族维生素,它参与调控蛋白质、DNA 的合成、生物甲基化和基因表达等相关的一碳单位转运<sup>[12]</sup>。它在体内的代谢受 *DNMT*、*MTHFR* 和甜菜碱高半胱氨酸甲基转移酶(*betaine-homocysteine methyltransferase, BHMT*)等的影响。*DNMT* 是 DNA 甲基化的关键酶,其表达直接影响 DNA 甲基化状态。*Engelham* 等<sup>[13]</sup>的研究表明,母体补充叶酸时,*DNMT*、*MTHFR* 和 *MS* 的基因表达均未受影响。这一现象说明叶酸介导的一碳单位代谢是一个复杂相互作用的系统,系统内大范围的调节机制使机体整体的叶酸和蛋氨酸循环处于一个稳定状态。另外,纯合子和杂合

子小鼠的 *MTHFR* 基因敲除试验证明,该基因缺失会显著降低血浆 SAM 含量或提高 SAH 含量,都能够导致总 DNA 甲基化程度降低<sup>[14]</sup>。同时,还有研究表明,杂合子个体小鼠在饲喂低叶酸饲料

时更容易受到血浆 Hcy 含量偏高的影响,从而导致在改变组织 DNA 甲基化模式的同时也会削弱大脑毛细血管内皮的功能<sup>[15]</sup>。



Methylation reactions: 甲基化反应; Protein: 蛋白质; Methionine: 蛋氨酸; Glycine: 谷氨酸; Choline: 胆碱; Betaine: 甜菜碱; Homocysteine: 同型高半胱氨酸; Cystathionine: 胱硫醚; Cysteine: 半胱氨酸; Thymidylate synthesis: 胸苷合成; Purine synthesis: 嘌呤合成; DHF: 二氢叶酸 dihydrofolic acid; MethylTHF: N5 - 甲基四氢叶酸 N5-methyltetrahydrofolic acid; Methylene THF: 亚甲基四氢叶酸 methylenetetrahydrofolic acid。B<sub>6</sub>: 维生素 B<sub>6</sub> vitamin B<sub>6</sub>; B<sub>12</sub>: 维生素 B<sub>12</sub> vitamin B<sub>12</sub>。

图 1 一碳单位代谢和 DNA 甲基化

Fig. 1 One-carbon metabolism and DNA methylation<sup>[11]</sup>

除叶酸外,其他 B 族维生素如维生素 B<sub>2</sub>、维生素 B<sub>6</sub>、维生素 B<sub>12</sub> 也会间接影响 DNA 甲基化(表 1)。一碳单位代谢中,5,10-亚甲基四氢叶酸(5,10-CH<sub>2</sub>THF)经过 MTHFR 的催化转变为 5-CH<sub>3</sub>THF 的同时,MS 催化 Hcy 再甲基化形成蛋氨酸,该反应需要维生素 B<sub>12</sub> 作为叶酸转运甲基作为主要辅因子。此外,饲料中叶酸缺乏可导致动物机体广泛低甲基化。大量研究表明,长期慢性维生素 B<sub>12</sub> 缺乏,可引发基因组 DNA 低甲基化,与食管鳞状细胞癌和胃贲门腺癌的高发也密切相关<sup>[16]</sup>。短期维生素 B<sub>12</sub> 缺乏可引起甲基化水平降低而导致 DNA 损伤。缺乏维生素 B<sub>12</sub> 和叶酸缺乏症类似,也减少 SAM 可利用量,影响 MS 的活性及基因表达,并在一定程度上改变 DNA 的甲基化模式<sup>[17]</sup>。经试验证实,维生素 B<sub>12</sub> 适度缺乏 10 周后,大鼠结肠上皮细胞 DNA 中胞嘧啶的甲基化程度下降 35%<sup>[18]</sup>。如图 1 所示,Hcy 转变为胱硫醚通过转硫途径形成半胱氨酸的过程需 2 个磷酸吡哆醛(维生素 B<sub>6</sub> 主要的活性形式)依赖酶,即 β-胱硫醚合成酶及 γ-胱硫醚酶催化。而维生素 B<sub>2</sub> 主要是作为辅酶黄素单核苷酸(flavin mononucle-

otide, FMN) 和黄素腺嘌呤二核苷酸(flavin adenine dinucleotide, FAD) 以及共价结合黄素的前体物质,这些辅酶参与叶酸和维生素 B<sub>6</sub> 的代谢;维生素 B<sub>2</sub> 缺乏时,维生素 B<sub>6</sub> 转化为其辅酶衍生物的过程可能受到损伤。作为 DNA 正常复制的主要辅酶, B 族维生素促使 5-CH<sub>3</sub>THF 去甲基,转变为 THF 和 5,10-CH<sub>2</sub>THF,以保证 DNA 正常甲基化和维持稳定所必需。其他水溶性的 B 族维生素,如生物素、泛酸及尼克酸则主要参与组蛋白的表观修饰。生物素是组蛋白生物素酰化的一种底物,泛酸是辅酶 A 的一部分。尼克酸不仅参与组蛋白 ADP-核糖基化作用,并且作为多聚(ADP-核糖)聚合酶[poly(ADP-ribose) polymerase, PARP]的底物,还作为 Sirt1(一种具有 NAD-依赖的蛋白质去乙酰化酶活性的多功能转录调节因子)的底物参与组蛋白的去乙酰化(histone deacetylase, HDAC)<sup>[19]</sup>。以上论述表明,叶酸是甲基的供体,维生素 B<sub>2</sub>、维生素 B<sub>6</sub>、维生素 B<sub>12</sub> 起着调节甲基团生物学活性的作用。DNA、组蛋白修饰、中心代谢途径和重要的营养代谢联系在一起共同构成了生物活性饲料成分直接影响表观遗传机制。

表 1 营养素和生物活性成分的表现遗传生理过程

Table 1 Epigenetic roles of nutrients and bioactive components in physiological processes<sup>[16]</sup>

营养类型 Nutritional types	营养素 Nutrients	作用途径 Action pathway
维生素 Vitamins	叶酸	一碳代谢的甲基受体和供体
	维生素 B <sub>12</sub>	MS 的辅酶
	维生素 B <sub>6</sub>	SHMT、CBS 及胱硫醚酶的辅酶
	维生素 B <sub>2</sub>	MTHFR 的辅酶
氨基酸及其衍生物 Amino acids and its derivatives	胆碱	通过 BHMT 高半胱氨酸再甲基化
	视黄酸	增强 GNMT 的活性
	蛋氨酸	S-腺苷甲硫胺 SAM 的前体物
矿物质元素 Mineral elements	甜菜碱	通过 BHMT 高半胱氨酸再甲基化
	丝氨酸	通过 SHMT 提供 THF 的甲基供体
	锌	MAT 的辅酶
生物活性化合物 Bioactive compounds	硒	增强转硫作用途径
	染料木黄酮	DNA 甲基转移酶的抑制剂
	茶多酚	DNA 甲基转移酶的抑制剂
	姜黄素	组蛋白乙酰基转移酶抑制剂
	白藜芦醇	组蛋白的去乙酰化抑制剂
其他因素 Other factors	乙醇	组蛋白的去乙酰化抑制剂
	丁酸	DNA 甲基化、组蛋白乙酰化
	限制饲料能量 控制蛋白质水平	组蛋白乙酰化 DNA 甲基化、组蛋白修饰

CBS:β-胱硫醚合成酶 cystathionine-beta-synthase;GNMT:甘氨酸-N-甲基转移酶 glycine-N-methyltransferase;MAT:甲硫氨酸腺苷基转移酶 methionine adenosyltransferase;SHMT:丝氨酸羟甲基转移酶 serine hydroxymethyltransferase。

### 2.2.3 氨基酸营养对肉鸡基因组 DNA 甲基化的影响

氨基酸的缺乏可能会破坏基因组的完整性并影响 DNA 甲基化水平,将饲料氨基酸水平与基因表达以及 DNA 甲基化联系起来,有利于对基因与营养的交互作用机制产生新的认识。这使得氨基酸参与基因表达调控及 DNA 甲基化的研究成为当前营养研究中的热点。Park 等<sup>[20-21]</sup>短期内给肉仔鸡饲喂蛋氨酸缺乏的饲料,其肝脏中 BHMT 的活性相对于采食充足蛋氨酸组有显著的提升,同时 BHMT mRNA 表达水平也显著升高。这表明在蛋氨酸缺乏的条件下,BHMT 活性与 mRNA 表达正相关,这种方式增强了 Hcy 再甲基化转变为蛋氨酸的能力,从而提高了蛋氨酸作为活性甲基供体的有效利用率。Liu 等<sup>[22]</sup>长期给予大鼠蛋氨酸缺乏的膳食试验导致了大鼠肝 DNA 整体的低甲基化和自发性肿瘤的形成。Waterland<sup>[23]</sup>研究得出了在小鼠膳食中添加或补充蛋氨酸可能会导致特定基因区域 DNA 高度甲基化的结论。宗凯<sup>[24]</sup>研究表明,饲料中氨基酸水平的高低不仅会影响

肉鸡的生长,同时也会影响肉鸡组织基因组 DNA 甲基化的程度,饲料中长期缺乏蛋氨酸可能会导致肌肉、肝脏等组织 DNA 低甲基化。而饲料中蛋氨酸过量时会导致肌肉、肝脏等组织 DNA 高甲基化,从而影响肉鸡的生长和屠宰性能。所有这些研究证实了氨基酸可以通过组织 DNA 甲基化变化影响特定基因的表达,进而影响动物的生产性能,为研究氨基酸分子的调控机理提供了理论基础。

### 2.2.4 微量营养素对 DNA 甲基化的影响

近年来从 DNA 甲基化角度研究微量营养素代谢病机理已成为新的研究热点。曹哲明等<sup>[25]</sup>发现低浓度镉离子(Cd<sup>2+</sup>)条件下,鲤鱼主要通过甲基化区域的微调减少 Cd<sup>2+</sup>的生理毒性。高浓度 Cd<sup>2+</sup>处理下,利于基因组 DNA 甲基化区域发生一定的变化,可能导致一些沉默基因的异常表达<sup>[25]</sup>。硒作为一种必需微量元素,也能影响 DNA 的甲基化水平。小鼠中硒缺乏导致结肠普遍性的低甲基化和 p53、p16 基因启动子区的高甲基化<sup>[26]</sup>。饮食硒缺乏能够降低鸡肌肉组织 DNA 甲基转移酶表

达的减少,基因组 DNA 总甲基化水平降低,从而增加家禽骨骼肌疾病发生的概率<sup>[27]</sup>。锌会增加生物体内金属硫蛋白的含量,金属硫蛋白与半胱氨酸作用形成复合物,降低游离半胱氨酸的含量,而游离的半胱氨酸又是 SAM 的底物,因此微量元素锌可能通过此途径间接影响生物体内 DNA 甲基化的修饰水平<sup>[28]</sup>。郭欣欣等<sup>[29]</sup>通过探究微量元素锌对不同发育阶段子代果蝇基因组 DNA 甲基化的影响,表明锌的长期暴露可以导致不同发育时期的子代果蝇基因组 DNA 甲基化多态性发生改变。微量元素砷、镍对 DNA 甲基化的影响在国内外也有诸多报道。Sciandrello 等<sup>[30]</sup>研究发现,短期的砷暴露将对 DNA 有长期的影响,造成整个基因组的低甲基化,这是造成基因不稳定的重要原因。Chen 等<sup>[31]</sup>研究发现,长期砷暴露下能影响机体的 DNA 甲基化水平。磷作为家禽饲料常用的矿物质元素,对鸡的生长发育、脂肪的代谢有重要的作用。Ashwell 等<sup>[32]</sup>阐述了早期肉鸡磷的供给受限时,育成肉鸡就会增强磷(P)的吸收率,并且发现家禽肠道中与 P 代谢吸收相关基因的 mRNA 的表达量显著增加,这也为营养素改变表观遗传的修饰提供可能的现象支持。

### 2.2.5 其他因素对表观遗传的影响

通过限制饲料能量和控制蛋白质水平来影响组蛋白乙酰化是表观遗传的普遍机制。Shimazu 等<sup>[33]</sup>发现碳水化合物含量低的饲料会诱导  $\beta$ -羟基丁酸盐( $\beta$ OHB)即酮体生成, $\beta$ OHB 是 HDAC 的内源抑制子,会增加组蛋白乙酰化,从而改变机体细胞生命活力。Romero 等<sup>[34]</sup>以不同的能量饲料饲喂罗斯(Ross)344 公鸡,生长至 22 周龄已出现显著的体重差异,并且体重低的公鸡后代于 42 日龄时的体重显著高于体重高的后代。表明体重过高的公鸡具有低的繁殖力,进而降低了自身遗传物质传递给下一代的潜力。该试验阐明表观遗传效应与种鸡饲料能量相关联,并通过受精卵营养传递给后代。

另外,母鸡的饲料特别是满足基本营养需要的饲料配方边际成本时,引起的某些营养物质的限制,对鸡蛋的营养状况产生显著的影响。Kidd<sup>[35]</sup>报道了母鸡矿物质、蛋白质、能量和维生素营养的添加能改善雏鸡生长阶段各个方面的性能。Peebles 等<sup>[36]</sup>观察到给种鸡饲喂玉米油与等量的家禽脂肪或猪油相比,能显著提高子代 21 日

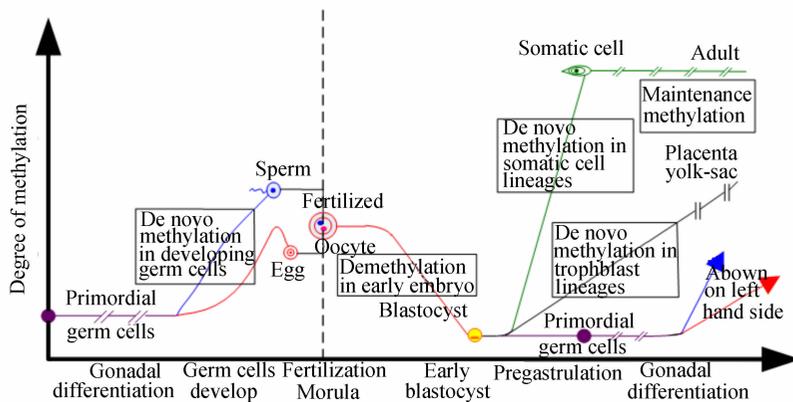
龄的体重,同时也增加屠宰体重,提高养鸡效益和肉质<sup>[37]</sup>。该研究表明饲料中多不饱和脂肪酸(如亚油酸)对肉种鸡后代的生长和胴体性状产生可遗传的基因表达改变的影响。Kidd<sup>[35]</sup>对 21 周龄种母鸡分别饲喂添加 0、25 mg/kg L-肉碱的试验饲料,根据 3 个孵化阶段(30、35、37 周龄)雏鸡来评估亲代摄食不同肉碱量对子代生产性能和胴体性状的影响,结果发现不论子代饲料如何,母鸡饲料中添加 L-肉碱能减少子代腹部脂肪沉积。该试验结果证实母体富集的营养物质可作为直接的环境因子调控脂质代谢,改变表观基因组,可以进行表观表现型的遗传传递。

## 3 禽类胚胎发生发育与表观遗传修饰

家禽孵化期间胚胎的发生发育是细胞分裂与分化最为活跃的时期,也是改善并提高受精卵利用率的关键时期,相应基因表观修饰也显示出动态学的变化,基因的表达调控也十分复杂。营养物对表观遗传修饰和遗传学修饰共同调控早期胚胎发生和发育。

### 3.1 禽类胚胎发生发育与 DNA 甲基化

在配子发生过程中,原始生殖细胞(PGCs)的形成触发了全基因组范围的去甲基化。当原始生殖细胞迁移到生殖嵴后,随即发生了全基因组范围的全新甲基化<sup>[38]</sup>。雌原核和雄原核表观修饰存在显著差异,但它们确保将优势个体的有利基因传递给后代。虽然卵母细胞基因组的甲基化程度较精子的相对要低,但就总体而言,受精前成熟配子均是高度甲基化的<sup>[39]</sup>,雄原核的大部分基因利于细胞增殖和胚胎增大,相比之下,雌原核基因倾向于抵抗父源基因来限制胚胎或后代的大小,从而维持母体的繁殖力和健康状况。DNA 甲基化修饰(基因组印记)主要发生在配子形成和分化中,精子和卵子在融合成受精卵前,都携带有来自父母方印记的不同的甲基化模式,受精后,DNA 开始去甲基化。在囊胚早期,大部分甲基化印迹被擦除,在胚胎发育过程中通过重新甲基化又获得印迹,并被保护以维持其正确的剂量效应(图 2)。上述细胞周期依赖的动态甲基化重新编程,不仅在植入前胚胎发育中起着关键作用,而且在印记、基因表达控制以及全能性核的构建中也有重要的作用。



Degree of methylation; 甲基化程度; Primordial germ cells: 原始生殖细胞; De novo methylation in developing germ cells: 生殖细胞生长中从头甲基化; Sperm: 精子; Egg: 卵子; Fertilized: 受精; Oocyte: 卵母细胞; Demethylation in early embryo: 早期胚胎去甲基化; Blastocyst: 囊胚; De novo methylation in somatic cells lineages: 体细胞中从头甲基化; De novo methylation in trophoblast lineages: 滋养层细胞中从头甲基化; Maintenance methylation: 维持甲基化; Placenta yolk-sac: 胎盘卵黄囊; Gonadal differentiation: 性腺分化; Germ cells develop: 生殖细胞发育; Fertilization: 受精作用; Morula: 桑葚胚; Early blastocyst: 囊胚早期; Pregastrulation: 原肠胚前期; Somatic cell 体细胞; Adult: 成年。

图 2 不同发育阶段 DNA 甲基化程度

Fig. 2 Degree of DNA methylation during various stages of development<sup>[40]</sup>

### 3.2 外源营养物对胚胎发育的影响

禽类胚胎正常的生长和发育有赖于蛋内充足的必需营养物质<sup>[41]</sup>。甲基供体和辅助因子不仅是植入后胚胎胞嘧啶重新建立甲基化模式所需, 而且也是胚胎在细胞增殖周期和出生早期维持这种甲基化模式所需。

禽类中, 沉积在蛋中的营养是胚胎发育的唯一营养来源, 并且也是母体将表观遗传信息传递给后代的媒介。母鸡在产卵前 7 d 将大部分脂溶性营养沉积在蛋黄中, 水溶性营养沉积在蛋白中, 并持续到开产前。蛋白作为胚胎的营养供给物, 就如哺乳动物胚胎中的羊水的养分, 包含丰富的蛋白质、氨基酸、生长因子及激素物质, 因而蛋白营养的吸收便是关键的表观遗传修饰过程。雏鸡出壳之前, 蛋白质是孵化初期的重要营养来源。人们通过胚体对表观遗传编程敏感时期——即蛋白输送胚体营养时, 向受精蛋中注入外源营养, 可以调控表观应答反应。Ferket 等<sup>[42]</sup> 通过向胚胎的羊膜腔中注射等压的鸡胚给养 (*in ovo feeding*, IOF) 溶液, 发现胚体在孵化前自发的吸收外源过量的营养。大量试验已经证实了 IOF 营养液对肉仔鸡生长代谢等表型性状的变化。Tako 等<sup>[43]</sup> 相比对照组, IOF 增加了初生仔鸡 3% ~ 7% 的重量,

并且这种优势至少一直持续到孵化后期的 14 d。另外试验发现, 含有盐、蔗糖、葡聚糖、 $\beta$ -羟基乙甲基丁酸、碳水化合物、精氨酸及锌指蛋白的 IOF 营养液除了能增加雏鸡的体重, 提高孵化率, 改善肠道形态发育之外还显著增加了黏蛋白屏障刷状缘酶、营养物转运蛋白基因的表达及其生物学活性, 甚至提高了小鸡的采食量等表观性状<sup>[44]</sup>。综上所述, 鸡胚的营养状态改善成年代谢与表观遗传紧密关联, 鸡胚给养技术为家禽可持续生产和福利带来希望<sup>[45]</sup>。

### 4 亲代应激影响后代行为的表观遗传机制

应激影响动物行为, 是驱动种群适应已改变生活环境的一个主要因素, 比如驯化。饲料养分、行为、生理生化、免疫、激素和信息环境影响表观基因组, 包括 DNA 甲基化和染色质的共价修饰。表观遗传的动态修饰是在应激不断增加的情况下最可能的促使行为和心理状态迅速发生改变的遗传机制。大量研究表明, 不同的环境因素, 包括家禽的抱窝性、就巢性、饲料及光照周期等都会通过表观遗传模式对整个生命进程及后代行为产生深远影响。虽然对于母鸡母性行为 and 表观遗传编程对后代表观遗传的修饰鲜有报道, 但关于这一主

题的研究正受到人们的广泛关注。为了解白来航鸡和红原鸡在不同应激下摄食差别对后代的学习能力差异及从表观遗传学的角度探索这种影响的深层次机制, Lindqvist 等<sup>[46]</sup>选取相同日龄的白来航鸡和红原鸡公母鸡各 15 只, 对照组采用 12 h/12 h 明暗交替光照节律, 而试验组采用不可预知的光照节律, 但保证 2 组每周总的光照时长一致。实际上, 试验组个体无法预测食物和水的可获得性, 而对照组能正常摄食。通过观察记录其后代采食行为、群体行为及空间学习能力, 并进行简单地描述分析。结果发现, 亲代的应激能迫使后代空间学习能力的降低, 且与红原鸡相比, 白来航在 2 种应激条件下的空间学习能力都较差。同时隔离亲代的接触的情况下, 受激的白来航的后代显著降低了空间学习能力, 但受激的白来航后代显著增加早期及种蛋的重量, 采食量增强, 生长更快且更有竞争力。由此可见, 生产能力的遗传选择造成后代对父母的“应激”反应更敏感的表现遗传。

行为表现遗传学是一个新兴的迅速发展的研究领域, 对庞大的行为系统起着始料未及的作用<sup>[47]</sup>。表现遗传学对动物福利的可能性依赖于可能的相对稳定的遗传标记的发现, 动物福利的影响及疾病易感性和许多生产特性, 并且在很大程度上这些发现能够广泛应用于家禽行业的管理之中。

## 5 表现遗传标记改变的可遗传性

对于表现遗传信息传递 (epigenetic inheritance), 现在科学家们已经进行了证明, 他们观察到后代有可能遗传父母过往经历导致的性状改变。例如, 历史饥荒事件可对曾经限制饮食的个体的孩子和孙辈造成健康影响, 这或许是因为限制饮食导致的表现遗传标记改变从而遗传给了后代。作为对化学接触或是营养物等环境因子的响应, 一些基因可能会累积异常的甲基化, 这可以引起基因异常。如果将这些标记遗传给后代, 他们的基因也可能受到影 响。禽类中, 由表现遗传机制介导的基因表达的差异会引起表型的大范围变化。通过食性的训练、克服就巢性、人工环境的创造等驯化方式来影响表现遗传修饰, 及这种变化是如何通过 DNA 甲基化来影响下一代的还知之甚少。传统的达尔文进化学说认为几千年的时

间中, 人们通过在鸡的基因中发生的随机、自发的突变来选育不同品种。而最近瑞典林雪平大学 Nätt 等<sup>[48]</sup>通过对比家养蛋鸡与它的起源红原鸡之间在大脑中基因活性及其 DNA 甲基化程度的检测, 发现数百个基因的活性及 DNA 甲基化存在显著的差异。同时检测这些表现遗传差异是否具有遗传性时, 发现雏鸡从它们的父代中遗传获得了相同的基因活性和甲基化修饰, 即便对 2 种类型的鸡进行 8 代交叉繁殖, 这些差异依然明显。这些研究结果充分表明, 家鸡驯养导致了表现遗传的变化, 并且这种变化可以被遗传下去。

与随机突变相比, 这种不改变核苷酸序列, 却影响 DNA 编码遗传信息的表现隔代遗传现象, 在动物育种中可以阐明很多现象, 例如长期引种以后发生退化, 很可能是引种时的营养、饲料、环境等表现因素的隔代遗传, 或者由环境或营养改变引发, 从而使得在短时间内一个品种中的变种数量急剧上升。

## 6 小 结

家禽营养与表现遗传学是一个新兴的研究领域, 相信在不久的将来将会获得更多的关注。表现遗传的研究带给家禽及其附属产业的经济效益也是显而易见的, 涉及到管理、孵化、幼雏管理、早期营养、疾病防御、繁殖性能、动物行为、肉产量和肉品质等各个方面。对于家禽业, 鸡胚营养专门用于修饰禽类表现遗传程序并表达出特定的生长特性, 这种“个性化营养套餐”即是基于表现遗传研究提出来的。遗憾的是营养程序化的产生是一个多因子共同作用的结果, 其程序性形成的机制还未完全明确。但是, 致力于家禽工作的科研者将最终体会到拉马克理论的巧妙之处——表现遗传是基于遗传密码和营养环境共同作用的。尽管这个领域的研究还充满荆棘和未知, 但家禽营养的表现遗传学已现雏形, 并激励我们去探索这片有着巨大潜力的前沿领域。

## 参考文献:

- [1] WADDINGTON C H. The strategy of the genes[M]. London: Allen & Unwin, 1958: 470-471.
- [2] 薛京伦. 表现遗传学——原理、技术与实践[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2006: 10-12.
- [3] RIGGS A D, MARTIENSSEN R A, RUSSO V E A.

- Epigenetic mechanisms of gene regulation [M]. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1996: 507 – 528.
- [ 4 ] 邢晋祎. 猪、鸡脂肪代谢相关基因的分子特征及表观遗传调控 [D]. 博士学位论文. 泰安: 山东农业大学, 2008: 92 – 94.
- [ 5 ] 刘静波. 叶酸对母猪繁殖性能、宫内发育迟缓仔猪肝脏基因表达和蛋白质组学影响研究 [D]. 硕士学位论文. 雅安: 四川农业大学, 2010: 29 – 31.
- [ 6 ] JIN S G, KADAM S, PFEIFER G P. Examination of the specificity of DNA methylation profiling techniques towards 5-methylcytosine and 5-hydroxymethylcytosine [J]. *Nucleic Acids Research*, 2010, 38 (11): e125.
- [ 7 ] WATERLAND R A, JIRTLE R L. Transposable elements: targets for early nutritional effects on epigenetic gene regulation [J]. *Molecular and Cellular Biology*, 2003, 23(15): 5293 – 5300.
- [ 8 ] WATERLAND R A, LIN J R, SMITH C A, et al. Post-weaning diet affects genomic imprinting at the insulin-like growth factor 2 (Igf2) locus [J]. *Human Molecular Genetics*, 2006, 15(5): 705 – 716.
- [ 9 ] LOWRY K R, ROSEBROUGH N J, FARR A L, et al. Efficacy of betaine relative to choline as a dietary methyl donor [J]. *Poultry Science*, 1987, 66: 135 – 140.
- [ 10 ] CAMPBELL R G, CADOGAN D J, MORLEY W C, et al. Interrelationships between dietary methionine and betaine on the growth performance of pigs from 65 to 100 kg [J]. *Journal of Animal Science*, 1995, 73 (Suppl. 1): 82.
- [ 11 ] 杨凤. 动物营养学 [M]. 2 版. 北京: 中国农业出版社, 1993: 194 – 195.
- [ 12 ] BAILEY L B, GREGORY J F, 3rd. Folate metabolism and requirements [J]. *The Journal of Nutrition*, 1999, 129(4): 779 – 782.
- [ 13 ] ENGEHAM S F, HAASE A. Supplementation of a maternal low-protein diet in rat pregnancy with folic acid ameliorates programming effects upon feeding behaviour in the absence of disturbances to the methionine-homocysteine cycle [J]. *British Journal of Nutrition*, 2010, 103(7): 996 – 1007.
- [ 14 ] CHEN Z T, KARAPLIS A C, ACKERMAN S L. Mice deficient in methylenetetrahydrofolate reductase exhibit hyperhomocysteinemia and decreased methylation capacity, with neuropathology and aortic lipid deposition [J]. *Human Molecular Genetics*, 2001, 10 (5): 433 – 443.
- [ 15 ] DEVLIN A M, ARNING E, BOTTIGLIERI T, et al. Effect of Mthfr genotype on diet-induced hyperhomocysteinemia and vascular function in mice [J]. *Blood*, 2004, 103(7): 2624 – 2629.
- [ 16 ] WEATHERSPOON L J, WORTHEN H D, HANDU D. Nutrition risk and associated factors in congregate meal participants in northern Florida role of Elder Care Services (ECS) [J]. *Journal of Nutrition for the Elder*, 2004, 24(2): 37 – 45.
- [ 17 ] BRUNAUD L, ALBERTO J M, AYAV A, et al. Vitamin B<sub>12</sub> is a strong determinant of low methionine synthase activity and DNA hypomethylation in gastrectomized rats [J]. *Digestion*, 2003, 68(2/3): 133 – 140.
- [ 18 ] CHOI S W, FRISO S, GHANDOUR H, et al. Vitamin B-12 deficiency induces anomalies of base substitution and methylation in the DNA of rat colonic epithelium [J]. *The Journal of Nutrition*, 2004, 134(4): 750 – 755.
- [ 19 ] KIRKLAND J B. Niacin status impacts chromatin structure [J]. *The Journal of Nutrition*, 2009, 139(12): 2397 – 2401.
- [ 20 ] PARK E I, RENDUCHINTALA M S, GARROW T A, et al. Diet-induced changes in hepatic betaine-homocysteine methyltransferase activity are mediated by changes in the steady-state level of its mRNA [J]. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 1997, 8(9): 541 – 545.
- [ 21 ] PARK E I, GARROW T A. Interaction between dietary methionine and methyl donor intake on rat liver betaine-homocysteine methyltransferase gene expression and organization of the human gene [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1999, 274(12): 7816 – 7824.
- [ 22 ] LIU L, WYLIE R C, ANDREWS L G, et al. Aging, cancer and nutrition: the DNA methylation connection [J]. *Mechanisms of Ageing and Development*, 2003, 124(10/11/12): 989 – 998. 1
- [ 23 ] WATERLAND R A. Assessing the effects of high methionine intake on DNA methylation [J]. *The Journal of Nutrition*, 2006, 136 (Suppl. ): 1706S – 1710S.
- [ 24 ] 宗凯. 日粮中蛋氨酸和赖氨酸水平对肉鸡生产性能及基因组甲基化的影响 [D]. 硕士学位论文. 合肥: 合肥工业大学, 2010: 42.
- [ 25 ] 曹哲明, 杨健. 不同浓度 Cd<sup>2+</sup> 对鲤鱼基因组 DNA 的影响 [J]. *应用与环境生物学报*, 2010, 16(4): 457 – 461.
- [ 26 ] DAVIS C D, UTHUS E O, FINLEY J W. Dietary se-

- lenium and arsenic affect DNA methylation *in vitro* in caco-2 cells and *in vivo* in rat liver and colon[J]. The Journal of Nutrition, 2000, 130(120):2903-2909.
- [27] 徐世文, 蒋智慧, 王超, 等. 硒缺乏对鸡肌肉组织 DNA 甲基化水平的影响[J]. 东北农业大学学报, 2012(9):42-46.
- [28] FAN W H, TANG G, ZHAO C M, et al. Metal accumulation and biomarker responses in *Daphnia magna* following cadmium and zinc exposure [J]. Environmental Toxicology and Chemistry, 2009, 28(2):305-310.
- [29] 郭欣欣, 毛雪, 张敏. 锌对不同发育时期子代果蝇基因组 DNA 甲基化的影响[J]. 生物多样性, 2012, 20(6):710-715.
- [30] SCIANDRELO G, CARADONNA F, MAURO M, et al. Arsenic-induced DNA hypomethylation affects chromosomal instability in mammalian cells[J]. Carcinogenesis, 2004, 25:413-417.
- [31] CHEN H, LI S F, JIE U, et al. Chronic inorganic arsenic exposure induces hepatic global and individual gene hypomethylation; implications for arsenic hepatocarcinogenesis [J]. Carcinogenesis, 2004, 25(9):1779-1786.
- [32] ASHWELL C M, ANGEL R. Nutritional genomics: a practical approach by early life conditioning with dietary phosphorus [J]. Revista Brasileira de Zootecnia, 2010, 39(Suppl.):268-278.
- [33] SHIMAZU T, HIRSCHEY M D, NEWMAN J, et al. Suppression of oxidative stress by  $\beta$ -hydroxybutyrate, an endogenous histone deacetylase inhibitor [J]. Science, 2013, 339(6116):211-214.
- [34] ROMERO-SANCHEZ H, PLUMSTEAD P W, BRAKE J. Feeding broiler breeder males. 1. Effect of feeding program and dietary crude protein during rearing on body weight and fertility of broiler breeder males[J]. Poultry Science, 2007, 86(1):168-174.
- [35] KIDD M T. Maternal nutrition effects on progeny development and performance [C]//Proceedings 33rd annual carolina poultry nutrition conference. [S. l.]: [S. n.], 2006:1-15.
- [36] PEEBLES E D, DOYLE S M, PANSKY T, et al. Effects of breeder age and dietary fat on subsequent broiler performance. 1. Growth, mortality, and feed conversion[J]. Poultry Science, 1999, 78(4):510-511.
- [37] PEEBLES E D, ZUMWALT C D, GERARD P D, et al. Market age live weight, carcass yield, and liver characteristics of broiler offspring from breeder hens fed diets differing in fat and energy contents[J]. Poultry Science, 2002, 81(1):23-29.
- [38] HAJKOVA P, ERHARDT S, LANE N, et al. Epigenetic reprogramming in mouse primordial germ cells [J]. Mechanisms of Development, 2002, 117(1/2):15-23.
- [39] ROUGIER N, BOURC'HIS D, GOMES D M, et al. Chromosome methylation patterns during mammalian preimplantation development [J]. Genes & Development, 1998, 12(14):2108-2113.
- [40] FALLS J G, PULFORD D J, WYLIE A A, et al. Genomic imprinting: implications for human diseases [J]. The American Journal of Pathology, 1999, 154(3):35-647.
- [41] KENNY M, KEMP C. Breeder nutrition and chick quality [J]. International Hatchery Practice, 2005, 19(4):7-11.
- [42] UNI Z, FERKET P R. Enhancement of development of oviparous species by *in ovo* feeding [P]. EP 1307230, 2003-05-07.
- [43] TAKO E, FERKE P. Effects of *in ovo* feeding of carbohydrates and beta-hydroxy-beta-methylbutyrate on the development of chicken intestine [J]. Poultry Science, 2004, 83(12):2023-2028.
- [44] TAKO E, FERKET P R, UNI Z. Changes in chicken intestinal zinc exporter mRNA expression and small intestinal functionality following intra-amniotic zinc-methionine administration [J]. The Journal of Nutritional Biochemistry, 2005, 16(6):339-346.
- [45] GALLOU K C, JUNIEN C. Nutritional epigenomics of metabolic syndrome: new perspective against the epidemic [J]. Diabetes, 2005, 54(7):1899-1906.
- [46] LINDQVIST C, JANCZAK A M, NÄTT D, et al. Transmission of stress-induced learning impairment and associated brain gene expression from parents to offspring in chickens [J]. PLoS One, 2007, 2(4):e364.
- [47] CHAMPAGNE F A, RISSMAN E F. Behavioral epigenetics: a new frontier in the study of hormones and behavior [J]. Hormones and Behavior, 2011, 59(3):277-278.
- [48] NÄTT D, RUBIN C J, WRIGHT D, et al. Heritable genome-wide variation of gene expression and promoter methylation between wild and domesticated chickens [J]. BMC Genomics, 2012, 13(1):59.

## Poultry Nutrition and Epigenetics

YU Xiaoqiong ZHAO Guiping LIU Ranran ZHENG Maiqing WEN jie \*

(*Institute of Animal Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China*)

**Abstract:** Over the past few decades, the theories of biological evolution founded by Darwin and genetics established by Mendelian laid the theoretical foundation for the poultry breeding and the improvement of breeding, which significantly improve the quality of poultry meat and enhance the poultry productivity. Genetic selection not only is able to dominate the parental gene, but also can transmit through successive generations. Mounting evidence suggests that environmental factors, such as nutritions play an important role in the modification of gene expression. However, epigenetics refers to the changes in gene expression that occurs without any change in DNA sequence, which has become an important subdiscipline within genetics. The article focused on the influence of poultry nutrition on DNA methylation, and the phenomenon that this influence can be successfully inherited by the offspring through the genetic remodeling of germ cells. [*Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2013, 25(10):2192-2201]

**Key words:** poultry; nutrition; epigenetic; DNA methylation