

# 點帶石斑攝食行為與促攝食基因調控初探

宋嘉軒<sup>1</sup>、陸振岡<sup>2</sup>

<sup>1</sup>水產試驗所企劃資訊組、<sup>2</sup>國立臺灣海洋大學水產養殖學系

## 魚類攝食行為

魚類的攝食行為 (feeding behavior) 一般可以分成三個連續的階段，首先是警覺、注意或喚醒；接著是充滿食慾尋找食物；最後則是攝食完成，此階段又包括進食 (food intake) 或吐出 (Atema, 1971; Jones, 1992)。攝食行為過程主要根據其對外界的感覺能力探測食物位置，然後本能的掠取、控制並且吞下食物，接著經消化作用將食物轉換成營養。

整個攝食過程中，許多內外因子會產生不同程度的影響，外在因子如溫度、水流、光照、密度和水深等環境中的物理因子以及溶氧、pH 值、氨、氮濃度和水中離子濃度等化學因子。另外，部分魚類具有社會階級行為，也會影響到攝食的過程。至於生物體的內在因子，則是受中樞系統的進食中樞 (central feeding system) 和周邊系統 (peripheral satiation system) 所聯合調控。在進食中樞系統是由神經胜肽 (neuropeptides) 和單體胺基酸 (monamines) 兩者的平衡來調控進食行為；在周邊系統中則由消化道胜肽和激素調節進食行為。大部分的胜肽與進食行為的關係多為抑制性的影響，僅僅有少部分胜肽為刺激進食 (Morley, 1987)。具有抑制攝食的激素統稱為 anorexigen 或

anorexigenic signal，包含：前腦啡黑細胞促素皮促 (pro-opiomelanocortin, POMC)、素促腎上腺皮質釋放激素 (corticotrophin-releasing factor, CRF)、膽囊收縮素 (cholecystokinin, CCK)、鈴蟾肽 (bombesin)，PYY (3-36)、瘦素 (leptin) 及胰島素 (insulin)。促進攝食的激素則統稱 orexigen 或 orexigenic signal，如神經胜肽 Y (neuropeptide Y, NPY) (Dominic et al., 2000)、豚鼠相關蛋白 (agouti-related protein, AgRP)、胃飢餓素 (ghrelin)、甘丙肽 (galanin)、鴉片胜肽 (opioid peptides) 等。

有關魚類攝食及食慾的研究，早期都集中在飼料的組成分及消化或是光週期、溫度等環境因子對攝食之影響，在神經調控方面的資訊則較缺乏，直到近年才漸漸的以神經調控的觀念研究魚類的食慾。最初也是利用電刺激或是電擊摧毀某一特定腦區的方式，確定魚類的下視丘與控制攝食有關。在板鰓類和硬骨魚類的金魚、鮭魚、鯰魚的實驗中，利用電擊刺激下視丘前葉可以有效的產生攝食反應。除了下視丘前葉外，其他的腦區似乎也牽涉到食慾的調控，以電擊刺激端腦、視覺頂蓋會引發攝食行為；而以電擊摧毀嗅神經束時，攝食行為就會停止或消失。在金魚的實驗中，注射適當濃度的 NPY 或 AgRP 同樣的會引起攝食行為以及促進攝食，而注射  $\alpha$ -MSH 後則有抑制攝食的效果，

注射 NPY 受體的抑制劑 BIBP-3226 也會具有抑制攝食的效果。這說明了在調控攝食的機制上，硬骨魚類和哺乳類是很相似的，也是由 NPY、AgRP 和  $\alpha$ -MSH 的相互作用來調控，而最主要的攝食調控因子也是神經胜肽 Y (NPY)。

## NPY 基因 (cDNA) 序列

透過 RT-PCR 及 RACE 所選殖出點帶石斑 (*Epinephelus coioides*) NPY 基因 cDNA 序列全長共 672 個核苷酸 (bp)，包含了 60 個核苷酸所組成的 5' 端未轉譯區域 (5' UTR)、300 個核苷酸所組成的轉譯區域 (coding region) 及 312 個核苷酸所組成的 3' 端未轉譯區域。轉譯區域推測可轉譯成 99 個胺基酸，其中包含訊息胜肽 (signal peptide) 28 個胺基酸，成熟胜肽 (mature peptide) 36 個胺基酸，切割及胺化位置 (cleavage & amidation site) 3 個胺基酸以及由 32 個胺基酸所構成的 C flanking Peptide Of NPY (CPON)。

選殖出的點帶石斑 NPY 基因核酸序列可轉譯成 99 個演譯胺基酸 (deduced amino acid) 序列，擷取其中 36 個胺基酸的成熟胜肽 (mature peptide) 序列，與已知物種的 NPY 成熟胜肽胺基酸序列比對，可以發現在胜肽序列 N 端及 C 端 2 個胺基酸均為酪氨酸，此為 NPY 序列的特徵 (圖 1)，也因此命名為 neuropeptide tyrosine，而 tyrosine 的英文縮寫為 Y，也稱為 neuropeptide Y，簡稱 NPY。

## 固定攝食週期下 NPY 基因的表現

在養殖過程中，定時定量的投餵馴餌，以養成良好的攝食週期習慣是很重要的步驟，有助於魚類的成長及養殖的管理。以半定量反轉錄-聚合酶連鎖反應 (semi-quantitative RT-PCR) 分析固定攝食週期下，NPY 基因在點帶石斑腦組織之表現模式。由實驗結果得知，從攝食前兩小時到攝食零時之間，NPY 基因的表現量顯著上升，

	(1)	1	10	20	36																															
Grouper (1)	Y	P	V	K	P	E	N	P	G	D	D	A	P	A	E	D	L	A	K	Y	Y	S	A	L	R	H	Y	I	N	L	I	T	R	Q	R	Y
Halibut (1)	Y	P	V	K	P	E	N	P	G	D	D	A	P	A	E	E	L	A	K	Y	Y	S	A	L	R	H	Y	I	N	L	I	T	R	Q	R	Y
Trout (1)	Y	P	V	K	P	E	N	P	G	E	D	A	P	T	E	E	L	A	K	Y	Y	T	A	L	R	H	Y	I	N	L	I	T	R	Q	R	Y
Catfish (1)	Y	P	T	K	P	E	N	P	G	E	D	A	P	V	E	E	L	A	K	Y	Y	S	A	L	R	H	Y	I	N	L	I	T	R	Q	R	Y
Carp (1)	Y	P	T	K	P	D	N	P	G	E	D	A	P	A	E	E	L	A	K	Y	Y	S	A	L	R	H	Y	I	N	L	I	T	R	Q	R	Y
Goldfish (1)	Y	P	T	K	P	D	N	P	G	E	G	A	P	A	E	E	L	A	K	Y	Y	S	A	L	R	H	Y	I	N	L	I	T	R	Q	R	Y
Zebrafish (1)	Y	P	T	K	P	D	N	P	G	E	D	A	P	A	E	E	L	A	K	Y	Y	S	A	L	R	H	Y	I	N	L	I	T	R	Q	R	Y
Axolotl (1)	Y	P	S	K	P	N	S	P	G	E	D	A	P	A	E	D	M	A	K	Y	Y	S	A	L	R	H	Y	I	N	L	I	T	R	Q	R	Y
Frog (1)	Y	P	S	K	P	D	N	P	G	E	D	A	P	A	E	D	M	A	K	Y	Y	S	A	L	R	H	Y	I	N	L	I	T	R	Q	R	Y
Chicken (1)	Y	P	S	K	P	D	N	P	G	E	D	A	P	A	E	D	M	A	R	Y	Y	S	A	L	R	H	Y	I	N	L	I	T	R	Q	R	Y
Mouse (1)	Y	P	S	K	P	D	N	P	G	E	D	A	P	A	E	D	M	A	R	Y	Y	S	A	L	R	H	Y	I	N	L	I	T	R	Q	R	Y
Rat (1)	Y	P	S	K	P	D	N	P	G	E	D	A	P	A	E	D	M	A	R	Y	Y	S	A	L	R	H	Y	I	N	L	I	T	R	Q	R	Y
Cow (1)	Y	P	S	K	P	D	N	P	G	E	D	A	P	A	E	D	L	A	R	Y	Y	S	A	L	R	H	Y	I	N	L	I	T	R	Q	R	Y
Sheep (1)	Y	P	S	K	P	D	N	P	G	D	D	A	P	A	E	D	L	A	R	Y	Y	S	A	L	R	H	Y	I	N	L	I	T	R	Q	R	Y
Monkey (1)	Y	P	S	K	P	D	N	P	G	E	D	A	P	A	E	D	M	A	R	Y	Y	S	A	L	R	H	Y	I	N	L	I	T	R	Q	R	Y
Human (1)	Y	P	S	K	P	D	N	P	G	E	D	A	P	A	E	D	M	A	R	Y	Y	S	A	L	R	H	Y	I	N	L	I	T	R	Q	R	Y

圖 1 不同物種 NPY 成熟胜肽 (mature peptide) 胺基酸序列比對 (alignment) 結果

攝食 0.25 小時後，則下滑至與攝食前 1 小時相同。攝食後 0.5 小時內 NPY 基因的表現量就快速下降 40%，到攝食後 2 小時，下降至最低。在所有時間點中，NPY 基因的表現量在攝食零時最高，攝食後 2 小時最低 (圖 2)。

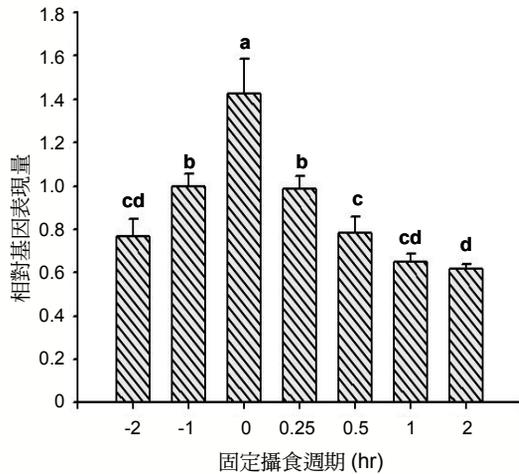


圖 2 固定攝食週期，點帶石斑腦組織 NPY 基因之表現模式

以 Semi-Quantitative RT-PCR 進行定量分析 NPY 基因之相對表現量 (Relative expression = NPY 基因表現量/ $\beta$ -actin 基因表現量)，並以 Duncan's Multiple Range Test 統計分析 (a、b、c、d 表示具有顯著差異 ( $p < 0.05$ ), cd 表示差異不顯著 ( $p > 0.05$ ))

## 連續飢餓狀態下與 NPY 基因表現

分別在飢餓 24、48、72、96、120 及 144 小時後，分析 NPY 基因在點帶石斑腦組織間之表現模式。結果顯示，經過飢餓的誘發下會刺激點帶石斑腦組織 NPY 基因的表現，隨著飢餓時間的增加，其表現量也會顯著上升，其中又以飢餓 72 小時的表現量為最高，24 小時最低 (圖 3)。因此在連續飢餓之下，會隨著飢餓時間而增強點帶石斑腦組織 NPY 基因的表現量。根據 Narnaware (2000)

等人的研究，金魚腦組織中 NPY 基因表現量會隨著飢餓時間延長而顯著增加，而一旦恢復進食之後，NPY 的基因表現就會快速下降，因而作者認為在連續飢餓之下，NPY 的增加可能促進攝食的慾望，另也觀察到連續飢餓恢復進食後，金魚攝食量也會增加。

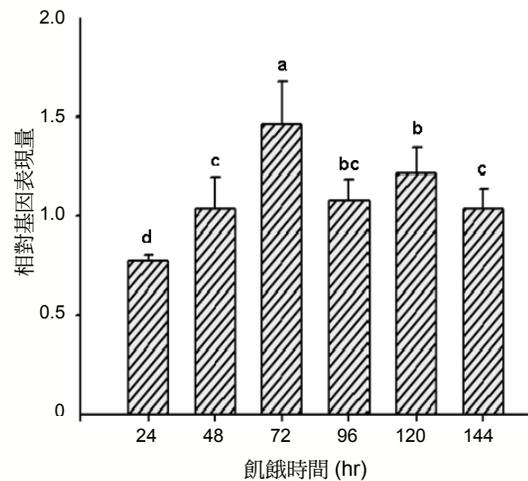


圖 3 在連續飢餓 (food deprivation) 的情況下，點帶石斑腦組織 NPY 基因之表現模式

以 Semi-Quantitative RT-PCR 進行定量分析 NPY 基因之相對表現量 (Relative expression = NPY 基因表現量/ $\beta$ -actin 基因表現量)，並以 Duncan's Multiple Range Test 統計分析 (a、b、c、d 表示具有顯著差異 ( $p < 0.05$ ), bc 表示差異不顯著 ( $p > 0.05$ ))

## 結語

陸續的研究發現，魚類的攝食與攝食行為的調控與許多基因有關，其中在腦組織中的 NPY 基因扮演主要的角色。NPY 基因表現的增加，可以誘發攝食行為並提高攝食量。要如何才能夠誘導促進腦組織內源性 NPY 基因的表現，是後續應用至促進魚類攝食及成長上的一個重要的發展方向。