

转录因子互作调控鸡脂肪细胞分化研究*

武春艳^{1,2,3}, 张志威^{1,2,3,4}, 王秋实³, 王宇祥^{1,2,3}, 王宁^{1,2,3}, 李玉茂^{1,2,3}, 李辉^{1,2,3**}

- (1.农业部鸡遗传育种重点实验室, 黑龙江哈尔滨 150030 ;
- 2.黑龙江省普通高等学校动物遗传育种与繁殖重点实验室, 黑龙江哈尔滨 150030 ;
- 3.东北农业大学动物科学技术学院, 黑龙江哈尔滨 150030 ;
- 4.石河子大学医学院, 新疆石河子 832000)

摘要 哺乳动物的CAAT增强子结合蛋白 α (C/EBP α)、CAAT增强子结合蛋白 β (C/EBP β)、过氧化物酶体增殖物激活型受体 γ (PPAR γ)和胆固醇调节元件结合蛋白质1(SREBP1)是脂肪细胞分化调控的重要因子, 鸟类脂肪细胞分化的分子调控网络目前还不清楚。本研究利用荧光素酶报告基因检测发现, C/EBP α 、C/EBP β 和SREBP1过表达促进鸡PPAR γ 基因启动子活性($P < 0.05$) ; C/EBP β 和SREBP1过表达抑制鸡C/EBP α 基因启动子活性($P < 0.05$) ; PPAR γ 过表达促进鸡FAS基因启动子的活性($P < 0.05$) , 并抑制鸡LPL和AFABP基因启动子活性($P < 0.05$) , 但对鸡C/EBP α 基因启动子活性没有显著影响($P > 0.05$)。本研究结果为进一步阐明鸡脂肪细胞分化的转录调控网络奠定了基础。

关键词 CAAT增强子结合蛋白 α (C/EBP α) ; CAAT增强子结合蛋白 β (C/EBP β) ; 过氧化物酶体增殖物激活型受体 γ (PPAR γ) ; 胆固醇调节元件结合蛋白质1(SREBP1) ; 启动子活性

Crosstalk between Transcription Factors Regulating Adipocyte Differentiation in Chickens*

WU Chunyan^{1,2,3}, ZHANG Zhiwei^{1,2,3,4}, WANG Qiushi¹, WANG Yuxiang^{1,2,3},
WANG Ning^{1,2,3}, LI Yumao^{1,2,3}, LI Hui^{1,2,3**}

- (1.Key Laboratory of Chicken Genetics and Breeding ,
Ministry of Agriculture , Harbin , Heilongjiang 150030 ;
- 2.Key Laboratory of Animal Genetics , Breeding and Reproduction ,
Education Department of Heilongjiang Province , Harbin , Heilongjiang 150030 ;
- 3.College of Animal Science and Technology ,
Northeast Agricultural University , Harbin , Heilongjiang 150030 ;
- 4.School of Medicine , Shihezi University , Shihezi , Xinjiang 832000)

Abstract In mammals , CAAT/enhancer-binding protein α (C/EBP α) , CAAT/enhancer-binding protein β (C/EBP β) ,

收稿日期 2014-03-28

修回日期 2014-04-10

*基金项目 国家肉鸡产业技术体系建设项目(CARS-42) 黑龙江省高等学校科技创新团队建设项目(2010td02)

**通讯作者 E-mail lihui@neau.edu.cn



sterol regulatory element binding protein 1 (SREBP1) and peroxisome proliferator activated receptor γ (PPAR γ) are considered as the pivotal transcription factors in regulating mammalian adipogenesis. However, the transcriptional regulatory network on adipogenesis in birds remains unclear. In this study, the luciferase reporter assay was performed, and the results showed that overexpression of chicken *C/EBP α* , *C/EBP β* or *SREBP1* in DF1 cells significantly enhanced *PPAR γ* promoter activity ($P < 0.05$), whereas the overexpression of *C/EBP β* or *SREBP1* suppressed *C/EBP α* promoter activity significantly ($P < 0.05$). In addition *PPAR γ* overexpression increased *FAS* promoter activity ($P < 0.05$), suppressed the promoter activities of *LPL* and *AFABP* ($P < 0.05$) but had no effect on *C/EBP α* promoter activity ($P > 0.05$). Collectively, our results provided a foundation for further elucidating the transcriptional regulatory network underlying chicken adipogenesis.

Key words *C/EBP α* , *C/EBP β* , *PPAR γ* , *SREBP1*, promoter activity

转录调控是哺乳动物脂肪细胞分化的主要调控方式^[1]。过氧化物酶体增殖物激活型受体 γ (Peroxisome proliferator activated receptor γ , PPAR γ)是脂肪细胞分化的关键调控因子^[2]。缺少 *PPAR γ* 基因表达的脂肪细胞不能分化为成熟脂肪细胞^[3]。

CAAT增强子结合蛋白家族(CAAT/enhancer-binding proteins, *C/EBPs*)包括 *C/EBP α* 、*C/EBP β* 、*C/EBP γ* 、*C/EBP δ* 和 Chop 10等均在脂肪细胞分化中短期表达。*C/EBP α* 是脂肪细胞分化中仅次于 PPAR γ 的重要调控因子^[3]。在多种小鼠成纤维细胞中异位表达 *C/EBP α* 基因可以诱导成纤维细胞转分化为脂肪细胞^[4]。在小鼠体内选择性敲除 *C/EBP α* 基因发现 *C/EBP α* 是白色脂肪组织发育所必需^[5]。过表达 *C/EBP α* 基因不能诱导缺乏 PPAR γ 的成纤维细胞形成脂肪细胞,说明 *C/EBP α* 和 PPAR γ 位于同一信号通路^[6]。此外,缺失了 *C/EBP α* 的脂肪细胞不会表现出胰岛素敏感性^[7]。*C/EBP β* 是脂肪细胞分化过程中另一个重要的促进因子,在 3T3-L1 前脂肪细胞分化过程中, *C/EBP β* 和 *C/EBP δ* 先于 PPAR γ 和 *C/EBP α* 表达^[8],并且对 PPAR γ 和 *C/EBP α* 表达都具有重要的转录调控作用^[9]。在 NIH 3T3 成纤维细胞中单独表达 *C/EBP β* ,或是同时表达 *C/EBP β* 和 *C/EBP δ* ,都可以诱导 PPAR γ 2 的表达^[10],但是在没有 PPAR γ 配体的情况下不能诱导 *C/EBP α* 表达^[11]。

胆固醇调节元件结合蛋白质 1(Sterol regulatory element binding protein 1, SREBP1)是一个跨膜蛋白,经过两次切割加工后,剩余的 N 端 bHLH 结构会作为一个转录因子进入细胞核发挥转录调控作用^[12]。SREBP1 也是脂肪细胞分化的重要调控因子,利用 3T3-L1 细胞进行的研究结果表明, SREBP1 可以通过促进 PPAR γ 内源性配体产生的方式增

强 PPAR γ 的转录调控能力^[13]。此外, SREBP1 还可以通过直接激活 *C/EBP β* 和 *C/EBP δ* 等脂肪细胞分化促进因子的表达来促进脂肪细胞的分化^[14]。

不同于哺乳动物,鸟类没有白色脂肪组织和棕色脂肪组织之分,并且脂肪组织本身合成脂肪的能力很弱^[15],因此,鸟类脂肪组织形成的转录调控模式很可能与哺乳动物不完全相同。目前还没有 *C/EBP α* 、*C/EBP β* 、PPAR γ 和 SREBP1 在鸟类脂肪细胞分化过程中的相互作用机制研究报道。本研究利用荧光素酶活性分析的方法,研究了 *C/EBP α* 、*C/EBP β* 、PPAR γ 和 SREBP1 这些转录调控因子之间的相互调控关系,以及 PPAR γ 对多个脂肪合成代谢基因的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

AA 肉鸡、DF1 细胞和鸡启动子报告基因质粒均来源于东北农业大学家禽课题组。其中鸡启动子报告基因质粒有 pGL3-basic-PPAR γ (-1985-89)、pGL3-basic-*C/EBP α* (-2214/-19)、pGL3-basic-FAS(-1086/+170)、pGL3-basic-LPL(-1817/+163)和 pGL3-basic-AFABP(-1983/+35)。

1.2 方法

1.2.1 总 RNA 提取及反转录

采用 Trizol 提取法提取总 RNA,用紫外分光光度计测定 RNA 浓度和纯度。每个样品吸取 1 μ g RNA 用于反转录,按照反转录试剂盒(Promega 公司)的说明书操作。反转录产物于 -20 $^{\circ}$ C 备用。

1.2.2 过表达载体构建

以鸡脂肪组织 cDNA 为模板,扩增鸡 *C/EBP α* 、*C/EBP β* 和 PPAR γ 基因全长编码区序列以及鸡 *SREBP1* 基因的转录调控区(N 端 bHLH 结构域)序列,引物信息和 PCR 条件见表 1。PCR 产物回收纯化后连接到 pMD-18T 载体上(TaKaRa 公

司)转化大肠杆菌 DH5 α 感受态细胞,提取质粒酶切鉴定正确后,进行测序(华大基因)。测序正确后,利用引物两端的酶切位点(*EcoR* I 和 *Xho* I)将上述目的片段分别亚克隆到 pCMV-HA 载体

(Clontech 公司)上,构建 pCMV-HA-C/EBP α 、pCMV-HA-C/EBP β 、pCMV-HA-PPAR γ 和 pCMV-HA-SREBP1 质粒。

表1 克隆引物及 PCR 条件

基因	登录号	扩增长度(bp)	退火温度(°C)	位点	循环数	引物序列(5'-3')
C/EBP α	X66844	975	55.5	356	34	AGGAATTCGGATGGAGCAAGCCAACCTTCTAC
				1 330		AACTCGAGCTAGGCCGAGCTGCCCATG
C/EBP β	NM_205253	987	58.0	212	34	GCGAATTCGGATGCAACGCCTGTTGGCCTGGGACG
				1 198		TTCTCGAGTCAGCAGCGGGCCGAGGAAGCGAGC
PPAR γ	NM_001001460	1 428	59.6	7	35	AGGAATTCGGATGCTTGACACAGAAATGCCG
				1 434		GGCTCGAGTTAATATAAGTCTTTATAG
SREBP1	NM_204126	1 176	60.0	132	35	TAGAATTCGGATGAGCGCTCTCGGCTTC
				1 307		TTCTCGAGTTACACCTCCATGGACGCCTCC

1.2.3 鸡胚成纤维细胞系(DF1)的培养及转染

DF1 细胞采用完全培养基(DMEM/F12+10% FBS),并在 37 °C 5% CO₂的条件下进行培养。转染前,将细胞按照每孔 1 \times 10⁴的密度接种到六孔板,每孔按 1 \times 10⁵的密度接种十二孔板,待细胞完全贴壁并生长至 70%~80%密度时进行转染。

细胞转染按照罗氏 FuGENE HD 转染试剂说

明书进行。将 pCMV-HA-C/EBP α 、pCMV-HA-C/EBP β 、pCMV-HA-PPAR γ 、pCMV-HA-SREBP1 和 pCMV-HA 质粒分别转染至六孔板细胞中;每孔加入质粒 2 μ g,转染试剂 8 μ L,转染 48 h 后收集细胞,检测过表达效果。十二孔板细胞的转染体系见表 2,同样在转染 48 h 后收集细胞,检测荧光素酶活性。

表2 细胞转染体系

启动子报告基因质粒	剂量	pRL-TK	过表达质粒	剂量
pGL3-basic-C/EBP α (-2214/-19)	200 ng	10 ng	C/EBP β /PPAR γ /SREBP1/EV	800 ng
pGL3-basic-PPAR γ (-1985/-89)	400 ng	8 ng	C/EBP α /C/EBP β /SREBP1/EV	600 ng
pGL3-basic-FAS(-1086/+170)	400 ng	8 ng	PPAR γ /EV	600 ng
pGL3-basic-LPL(-1817/+163)	400 ng	20 ng	PPAR γ /EV	600 ng
pGL3-basic-AFABP(-1983/+35)	400 ng	20 ng	PPAR γ /EV	600 ng

注:EV 为 pCMV-HA 质粒。

1.2.4 Western-blot 试验

用细胞裂解液(RIPA Buffer)收集细胞;10 000 r/min 4 °C离心 10 min,取上清。取 10 μ L 蛋白上样,经 SDS-PAGE 分离后,电转至 PVDF 膜上。膜放入含 5%脱脂奶粉的 PBST 中,室温振荡封闭 1 h。用 PBST 洗涤后将膜孵育在含有一抗(鼠源鸡 GAPDH 蛋白单抗 1 100;兔源 HA 标签多抗 1 200)的 PBST 中,室温振荡孵育 1h。洗涤后再将膜孵育在含有二抗(山羊抗小鼠或山羊抗兔 1 5 000)的 PBST 溶液中,室温振荡孵育 1 h。洗涤后进行常规 ECL 显色。

1.2.5 荧光素酶活性检测

利用 Dual-Luciferase Reporter Assay System (Promega 公司)试剂盒检测萤火虫荧光素酶和海

肾荧光素酶活性,相对报告基因活性结果以萤火虫/海肾值表示。

1.2.6 数据分析

数据分析采用 Student's t-test,运用 SAS 9.2 软件完成,数据格式表示为(平均值 \pm 标准差)。统计分析 $P < 0.05$ 为差异显著, $P < 0.01$ 为差异极显著。

2 结果与分析

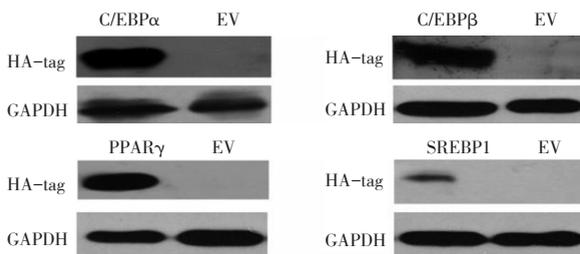
2.1 鸡 C/EBP α 、C/EBP β 、PPAR γ 和 SREBP1 瞬时表达载体的构建

利用鸡 C/EBP α 、C/EBP β 、PPAR γ 和 SREBP1 基因的克隆引物(见表 1),以 7 周龄 AA 肉鸡腹部脂肪组织的 cDNA 为模板进行 PCR 扩增,分别得到长度约为 1 000 bp、1 000 bp、1 400 bp 和 1 100 bp 的特异性条带。测序结果显示 PCR 扩增获得的

序列与NCBI数据库提供的鸡 *C/EBPα* (356/1330, GenBank 登录号 :X66844)、*C/EBPβ* (212/1189, GenBank 登录号 :NM_205253)、*PPARγ* (7/1434, GenBank 登录号 :NM_001001460) 和 *SREBP1* (132/1307, GenBank 登录号 :NM_204126) 的相应编码区序列完全一致,序列相似性为100%。

将经过测序验证的鸡 *C/EBPα*、*C/EBPβ*、*PPARγ* 和 *SREBP1* 序列在保证阅读框正确的前提下,利用引物两端的 *EcoR I* 和 *Xho I* 酶切位点亚克隆到 pCMV-HA 载体上,构建 pCMV-HA-*C/EBPα*、pCMV-HA-*C/EBPβ*、pCMV-HA-*PPARγ* 和 pCMV-HA-*SREBP1* 质粒。将所构建的质粒分别进行 *EcoR I* 和 *Xho I* 双酶切验证,琼脂糖凝胶电泳条带与预期结果一致,表明载体构建成功。

Western-blot 结果显示,转染 pCMV-HA-*C/EBPα*、pCMV-HA-*C/EBPβ*、pCMV-HA-*PPARγ* 和 pCMV-HA-*SREBP1* 质粒的 DF1 细胞均表达了相应的 HA 标签蛋白(见图1),表明构建的表达载体可以成功过表达上述4种蛋白。



注 GAPDH 作为内参。

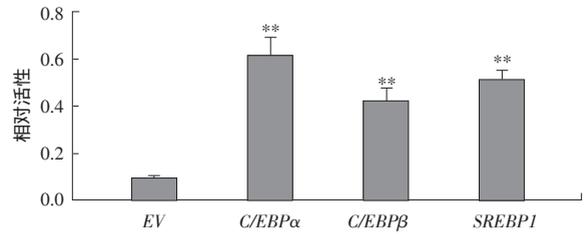
图1 *C/EBPα*、*C/EBPβ*、*PPARγ* 和 *SREBP1* 基因的过表达验证

2.2 *C/EBPα*、*C/EBPβ* 和 *SREBP1* 过表达对鸡 *PPARγ* 基因启动子活性的影响

将鸡 *C/EBPα*、*C/EBPβ* 和 *SREBP1* 过表达载体分别与 *PPARγ* 启动子(-1985/-89)报告基因载体共转染 DF1 细胞,培养 48 h 后,回收细胞检测荧光素酶活性。结果显示 *C/EBPα*、*C/EBPβ* 和 *SREBP1* 过表达均能显著促进鸡 *PPARγ* 基因启动子的活性($P < 0.05$, 见图2)。

2.3 *C/EBPβ*、*PPARγ* 和 *SREBP1* 过表达对鸡 *C/EBPα* 基因启动子活性的影响

将鸡 *C/EBPβ*、*PPARγ* 和 *SREBP1* 过表达载体分别与鸡 *C/EBPα* 启动子(-2214/-19)报告基因载体共转染 DF1 细胞,培养 48 h 后,回收细胞检测荧光素酶活性。结果显示 *C/EBPβ* 和 *SREBP1* 过表



注 **表示显著差异($P < 0.05$),下同。

图2 *C/EBPα*、*C/EBPβ* 和 *SREBP1* 过表达对鸡 *PPARγ* 基因启动子活性的影响

达可抑制鸡 *C/EBPα* 基因启动子的活性($P < 0.05$, 见图3),而 *PPARγ* 过表达对鸡 *C/EBPα* 基因启动子活性没有显著影响($P > 0.05$, 见图3)。

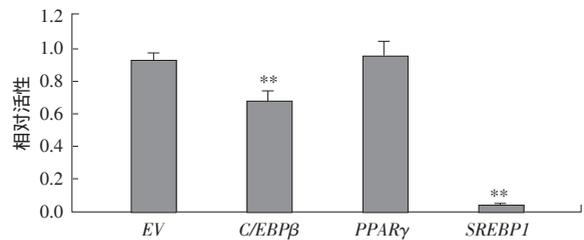


图3 *C/EBPβ*、*PPARγ* 和 *SREBP1* 过表达对鸡 *C/EBPα* 基因启动子活性的影响

2.4 *PPARγ* 过表达对鸡 *FAS*、*LPL* 和 *AFABP* 基因启动子活性的影响

将鸡 *PPARγ* 过表达载体分别与脂肪酸合成酶(*FAS*)基因启动子(-1086/+170)、脂蛋白脂酶(*LPL*)基因启动子(-1817/+163)和脂肪型脂肪酸结合蛋白(*AFABP*)基因启动子(-1983/+35)报告基因质粒共转染 DF1 细胞,培养 48 h 后,回收细胞检测荧光素酶活性。结果显示 *PPARγ* 过表达促进鸡 *FAS* 基因启动子的活性($P < 0.05$, 见图4a),抑制鸡 *LPL* 和 *AFABP* 基因启动子活性($P < 0.05$, 见图4b、4c)。

3 讨论

本研究利用启动子报告基因的方法分析了鸡 *C/EBPα*、*C/EBPβ*、*PPARγ* 和 *SREBP1* 过表达间的相互调控关系。结果显示,鸡 *C/EBPα*、*C/EBPβ* 和 *SREBP1* 过表达促进鸡 *PPARγ* 基因的启动子活性,与哺乳动物结果一致,表明鸡 *C/EBPα*、*C/EBPβ* 和 *SREBP1* 也是 *PPARγ* 的转录促进因子。对鸡 *PPARγ* 基因启动子区域转录因子结合位点进行分析,发现 *PPARγ* 基因启动子(-1985/-89)上存在多个 *C/EBPα* 和 *C/EBPβ* 转录因子的结合位

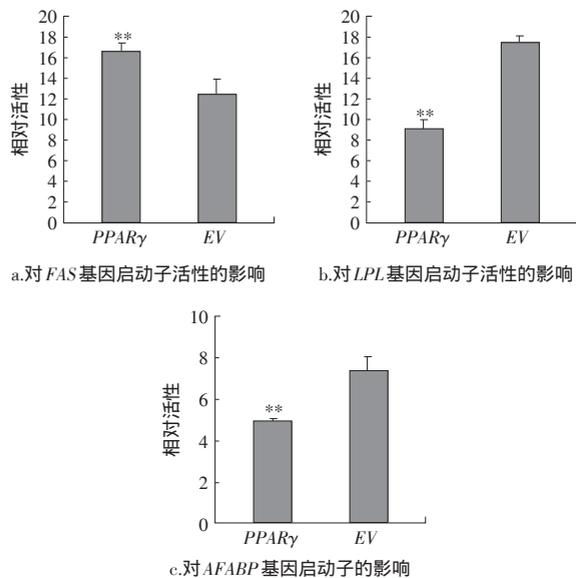


图4 PPAR γ 过表达对鸡FAS、LPL和AFABP基因启动子活性的影响

点(见图5) Ding等^[16]研究也表明转录因子C/EBP α 可以通过直接结合鸡PPAR γ 启动子上的C/EBP α 结合位点来发挥对鸡PPAR γ 基因的转录促进作用;据此,推测鸡转录因子C/EBP β 可能也是通过直接结合鸡PPAR γ 启动子上的相应位点(-1985/-89)来发挥对鸡PPAR γ 基因启动子活性的促进作用。然而,不同于哺乳动物PPAR γ 1和PPAR γ 3的启动子^[17],鸡PPAR γ 启动子(-1985/-89)上并未发现转录因子SREBP1的结合位点(见图5),暗示鸡SREBP1对鸡PPAR γ 启动子活性的促进作用很可能同哺乳动物中SREBP1一样,通过促进C/EBP β 和C/EBP δ 的表达^[14]来间接促进PPAR γ 的启动子活性。

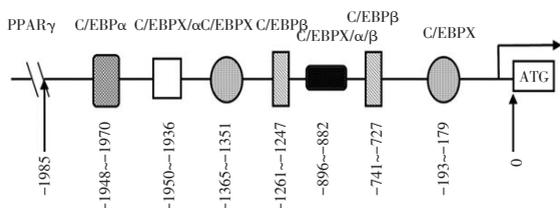


图5 PPAR γ 基因启动子(-1985/-89)上的C/EBP的结合位点分析

3T3-L1前脂肪细胞的研究结果表明,在脂肪细胞分化过程中C/EBP β 和C/EBP δ 先于C/EBP α 表达^[8],外源表达C/EBP β 可促进C/EBP α 的表达^[9]。本研究发现C/EBP β 过表达虽然促进鸡PPAR γ 基因的启动子活性,但是却不能促进鸡C/EBP α 基因的启动子活性;小鼠成纤维中研究发现在没有

PPAR γ 配体的情况下,异位表达C/EBP β 不能促进C/EBP α 的表达^[11],我们推测鸡C/EBP β 过表达对C/EBP α 基因没有显著影响的原因,可能和哺乳动物一样,是由于缺少了PPAR γ 配体的存在所致^[11]。

对鸡C/EBP α 启动子上的转录因子结合位点进行分析,发现鸡C/EBP α 启动子(-2214/-19)上同时存在转录因子C/EBP β 和SREBP1的结合位点,提示C/EBP β 和SREBP1可能是通过直接结合在C/EBP α 启动子的相应位点上来发挥对C/EBP α 基因的转录抑制作用。3T3-L1前脂肪细胞的研究表明,C/EBP β 过表达促进C/EBP α 基因的转录^[11],SREBP1过表达通过促进C/EBP β 表达间接促进C/EBP α 基因的表达^[14],然而本研究发现DF1细胞中SREBP1或C/EBP β 过表达均抑制C/EBP α 基因的启动子活性,和3T3-L1前脂肪细胞中得到结果正好相反,产生这种结果的原因可能是由于DF1细胞和3T3-L1前脂肪细胞的遗传背景差异,还需进行进一步的研究,揭示差异的具体分子机制。

FAS是体内合成内源性饱和脂肪酸的关键酶,本研究发现PPAR γ 过表达促进鸡FAS基因的启动子活性,表明在鸡脂肪细胞分化过程中,PPAR γ 可能通过促进脂滴合成来促进脂肪细胞的成熟。

LPL和AFABP是脂类沉积和代谢过程中非常重要的功能蛋白。LPL在脂肪的转运过程和储存利用中发挥重要作用^[18,19],AFABP能够加强脂肪酸的转运扩散,促进脂肪细胞膜溶解吸附脂肪酸^[20],并参与调控脂肪生成和溶解的生化循环^[21]。本研究发现鸡PPAR γ 过表达抑制LPL和AFABP基因的启动子活性。然而我们的前期研究表明,在鸡前脂肪细胞中干扰PPAR γ 基因后,LPL和AFABP基因的mRNA表达水平明显下降^[21],即PPAR γ 对LPL和AFABP基因的表达具有促进作用,两个试验结果完全相反。哺乳动物的研究表明,PPAR γ 通过与不同的辅助因子结合对AFABP基因发挥的转录调控作用不同,PPAR γ 与Trap220互作,促进AFABP转录,PPAR γ 与Taz互作,则抑制AFABP转录^[22]。推测产生两种完全相反的结果的原因可能是,同其它动物PPAR γ 一样,鸡PPAR γ 对LPL和AFABP的转录调控作用与细胞的遗传背景和细胞周期有关。此外,本研究在鸡FAS基因启动子(-1086/+170)、LPL基因启动子(-1817/+163)和AFABP基因启动子(-1983/+35)上均未发现转

录因子 PPAR γ 的结合位点 (TRANSFAC 分析, Threshold>85) 暗示鸡 PPAR γ 对这些基因的调控作用可能通过间接途径实现。

综上所述,本研究发现在 DF1 细胞系中 C/EBP α 、C/EBP β 和 SREBP1 过表达促进 PPAR γ 基因的启动子活性;C/EBP β 和 SREBP1 过表达抑制 C/EBP α 基因的启动子活性;PPAR γ 过表达促进 FAS 基因的启动子活性,抑制 LPL 和 AFABP 基因的启动子活性,对 C/EBP α 基因的启动子活性无显著影响。本研究结果将有助于进一步构建鸡脂肪细胞分化的转录调控网络。

参考文献:

- 1 Farmer S R. Transcriptional control of adipocyte formation[J]. Cell Metab 2006 4(4) 263-73.
- 2 Tontonoz P, Spiegelman B M. Fat and beyond the diverse biology of PPARgamma[J]. Annu Rev Biochem 2008 77 289-312.
- 3 Lefterova M I, Lazar M A. New developments in adipogenesis [J]. Trends Endocrinol Metab 2009 20(3) :107-114.
- 4 Freytag S O, Paielli D L, Gilbert J D. Ectopic expression of the CCAAT/enhancer-binding protein alpha promotes the adipogenic program in a variety of mouse fibroblastic cells[J]. Genes Dev 1994 8(14) :1654-1663.
- 5 Linhart H G, Ishimura-Oka K, DeMayo F, et al. C/EBPalpha is required for differentiation of white, but not brown, adipose tissue[J]. Proc Natl Acad Sci 2001 98(22) :12532-12537.
- 6 Rosen E D, Hsu C H, Wang X, et al. C/EBPalpha induces adipogenesis through PPARgamma: a unified pathway [J]. Genes Dev 2002 16(1) 22-26.
- 7 El-Jack A K, Hamm J K, Pilch P F, et al. Reconstitution of insulin-sensitive glucose transport in fibroblasts requires expression of both PPARgamma and C/EBPalpha [J]. J Biol Chem, 1999 274(12) :7946-7951.
- 8 Cao Z, Umek R M, McKnight S L. Regulated expression of three C/EBP isoforms during adipose conversion of 3T3-L1 cells[J]. Genes Dev 1991 5(9) :1538-1552.
- 9 Yeh W C, Cao Z, Classon M, et al. Cascade regulation of terminal adipocyte differentiation by three members of the C/EBP family of leucine zipper proteins[J]. Genes Dev 1995 9(2) :168-181.
- 10 Wu Z, Bucher N L, Farmer S R. Induction of peroxisome proliferator-activated receptor gamma during the conversion of 3T3 fibroblasts into adipocytes is mediated by C/EBPbeta, C/EBPdelta, and glucocorticoids[J]. Mol Cell Biol 1996 16(8) :4128-4136.

- 11 Zuo Y, Qiang L, Farmer S R. Activation of CCAAT/enhancer-binding protein(C/EBP)alpha expression by C/EBP beta during adipogenesis requires a peroxisome proliferator-activated receptor-gamma-associated repression of HDAC1 at the C/EBP alpha gene promoter[J]. J Biol Chem 2006 281(12) :7960-7967.
- 12 Brown M S, Goldstein J L. The SREBP pathway: regulation of cholesterol metabolism by proteolysis of a membrane-bound transcription factor[J]. Cell 1997 89(3) 331-340.
- 13 Kim J B, Wright H M, Wright M, et al. ADD1/SREBP1 activates PPARgamma through the production of endogenous ligand[J]. Proc Natl Acad Sci 1998 95(8) :4333-4337.
- 14 Le Lay S, Lefrere I, Trautwein C, et al. Insulin and sterol-regulatory element-binding protein-1c(SREBP-1C) regulation of gene expression in 3T3-L1 adipocytes. Identification of CCAAT/enhancer-binding protein beta as an SREBP-1C target[J]. J Biol Chem 2002 277(38) 35625-35634.
- 15 Rosen E D, MacDougald O A. Adipocyte differentiation from the inside out[J]. Nat Rev Mol Cell Biol 2006 7(12) :885-896.
- 16 Fajas L, Schoonjans K, Gelman L, et al. Regulation of peroxisome proliferator-activated receptor gamma expression by adipocyte differentiation and determination factor 1/sterol regulatory element binding protein 1: implications for adipocyte differentiation and metabolism[J]. Mol Cell Biol 1999 19(8) 5495-503.
- 17 杜建青, 赵婷婷. 脂肪酸合酶与冠心病的关系[J]. 中国动脉硬化杂志 2011, 19(3) 227-231.
- 18 Emmerich J, Beg O U, Petersen J, et al. Human lipoprotein lipase. Analysis of the catalytic triad by site-directed mutagenesis of Ser-132, Asp-156, and His-241 [J]. J Biol Chem 1992, 267(16) :4161-4165.
- 19 Daniels C, Noy N, Zakim D. Rates of hydration of fatty acids bound to unilamellar vesicles of phosphatidylcholine or to albumin [J]. Biochemistry 1985 24(13) 3286-3292.
- 20 Hertzel A V, Bennaars-Eiden A, Bernlohr D A. Increased lipolysis in transgenic animals overexpressing the epithelial fatty acid binding protein in adipose cells [J]. J Lipid Res 2002, 43(12) 2105-2011.
- 21 王丽, 那威, 王宇祥, 等. 鸡 SREBP1 基因抗血清制备及组织表达特性分析[J]. 细胞与分子免疫学杂志 2010 26(12) :1241-1245.
- 22 Ding N, Gao Y, Wang N, et al. Functional analysis of the chicken PPARgamma gene 5'-flanking region and C/EBPalpha-mediated gene regulation [J]. Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol 2011 158(4) 297-303.

