

# 鸡肝细胞中 *L-BABP* 基因表达对脂类代谢基因及甘油三酯和总胆固醇的影响

高广亮<sup>1,2,3,4</sup>, 张庆秋<sup>1,2,3</sup>, 李 辉<sup>1,2,3\*</sup>, 王启贵<sup>1,2,3,4\*</sup>

(1. 农业部鸡遗传育种重点实验室, 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, 哈尔滨 150030; 3. 东北农业大学动物科学技术学院, 哈尔滨 150030; 4. 重庆市畜牧科学院, 重庆 402460)

**摘要:** 本研究以鸡原代肝细胞为试验材料, 探讨鸡 *L-BABP* 基因对脂类代谢相关基因及生化指标(总胆固醇、甘油三酯、低密度脂蛋白和高密脂蛋白)的影响。利用 RNAi 和过表达技术下调和上调该基因的表达, 分别在干扰和过表达 24、36、48、60 和 72 h 时检测鸡肝细胞中脂类代谢相关基因的表达量变化及细胞培养基中脂类代谢相关生化指标的变化。结果显示, 鸡 *L-BABP* 基因表达量的变化显著或极显著影响 *APOB*、*APOAI* 和 *PERILIPIN* 基因表达, 且显著地改变细胞培养基中的甘油三酯和总胆固醇的含量。基于以上结果, 本研究推测鸡肝细胞中 *L-BABP* 基因可能参与禽类脂肪沉积、总胆固醇代谢和脂解过程。

**关键词:** 鸡肝细胞; *L-BABP* 基因; *APOB* 基因; *APOAI* 基因; *Perilipin* 基因; 总胆固醇; 甘油三酯

中图分类号: S831.2

文献标志码: A

文章编号: 0366-6964(2015)01-0032-09

## The Effect of *L-BABP* Gene Expression on the Lipid Metabolism Genes and Cholesterol and Triglyceride in Chicken Hepatocytes

GAO Guang-liang<sup>1,2,3,4</sup>, ZHANG Qing-qiu<sup>1,2,3</sup>, LI Hui<sup>1,2,3\*</sup>, WANG Qi-gui<sup>1,2,3,4\*</sup>

(1. Key Laboratory of Chicken Genetics and Breeding of Ministry of Agriculture, Harbin 150030, China; 2. Key Laboratory of Animal Genetics, Breeding and Reproduction, Education Department of Heilongjiang Province, Harbin 150030, China; 3. College of Animal Science and Technology, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China; 4. Chongqing Academy of Animal Science, Chongqing 402460, China)

**Abstract:** This study was designed to investigate the role of *L-BABP* gene in lipid metabolism of hepatocytes and the effect of *L-BABP* gene on the genes related to lipid metabolism in chicken. *L-BABP* gene expression was downregulated by siRNA interference and upregulated via overexpression plasmids method. The genes expression level in chicken hepatocytes were detected at 24, 36, 48, 60 and 72 h after transfection with the siRNAs and overexpression plasmids of *L-BABP*. The results showed that *APOAI*, *APOB*, *PERILIPIN* gene expression levels, the amount of cholesterol and triglyceride in the medium are significantly affected by *L-BABP* gene expression changes. Therefore, *L-BABP* may involve in fat deposition, metabolism of total cholesterol and the process of lipolysis lipid metabolism.

**Key words:** chicken hepatocytes; *L-BABP* gene; *APOB* gene; *APOAI* gene; *PERILIPIN* gene; cholesterol; triglyceride

收稿日期: 2014-05-16

基金项目: 国家自然科学基金项目(30771542); 现代农业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)

作者简介: 高广亮(1987-), 男, 吉林白城人, 硕士, 主要从事家禽遗传育种研究, E-mail: guanglianggao@sina.com

\* 通信作者: 李 辉, 博士, 教授, 主要从事家禽遗传育种研究, E-mail: lihui@neau.edu.cn; 王启贵, 博士, 教授, 主要从事家禽遗传育种研究, E-mail: wangqigui@hotmail.com

脂肪酸结合蛋白家族(Fatty acid binding proteins, FABPs)对细胞内脂肪酸的运输起着重要的作用<sup>[1-3]</sup>,通过与脂肪酸结合增加脂肪酸的可溶性,并将其运输到线粒体、过氧化氢酶体等位置进行氧化,内质网等位置酯化成甘油三酯或磷脂<sup>[4]</sup>。胆汁酸结合蛋白(Liver basic acid binding protein, *L-BABP*)属于 FABPs 中的一员,对脂肪酸结合能力较弱,而对胆汁酸具有较强的亲和力,且能够结合两分子的胆汁酸<sup>[5-6]</sup>,该基因特异地存在于禽类的肝组织中<sup>[7]</sup>。禽类的胆固醇在肝中可以分解为胆汁酸,所以胆汁酸对日粮中脂肪的消化和吸收有重要影响<sup>[8]</sup>,胆固醇经肝左右管—肝总管—胆总管,进入十二指肠,参加消化,小肠中的胆汁酸被重吸收,经肝门静脉进入肝完成循环。目前对于胆汁酸进出肝细胞和小肠上皮细胞的受体系统和外排系统的分子机理较为清楚,而胆汁酸在肝和小肠细胞中的运输机制仍不是非常清晰,晶体结构的研究中证实 *L-BABP* 基因可能为胆汁酸的运输者<sup>[9]</sup>,推测 *L-BABP* 基因可能参与胆汁酸的运输并在胆汁酸代谢途径中发挥重要的作用。

前期研究结果表明,*L-BABP* 基因的 SNP 突变位点对鸡体重、腹脂重和腹脂率有显著影响<sup>[10]</sup>,这预示着 *L-BABP* 基因在脂类代谢通路中具有重要的作用。为了进一步揭示 *L-BABP* 调节肝细胞脂类代谢的分子机制,本研究选择了与脂类代谢相关的 *PPAR $\alpha$*  (Peroxisome proliferators-activated receptor alpha, *PPAR $\alpha$* )基因;检测对脂肪酸转运到线粒体的相关 *CPTI* (Carnitine palmitoyltransferase I, *CPTI*)基因;检测合成载脂蛋白 *APOAI* 和 *APOB* 基因;检测胆固醇转运相关的基因 *SREBPI* (Sterol regulatory element binding protein I, *SREBPI*) 和 *PERILIPIN* 基因;以及在肝细胞中表达的另一个脂肪酸结合蛋白家族成员 *L-FABP* (Liver fatty acid binding protein, *L-FABP*) 基因作为检测的靶基因,检测 *L-BABP* 基因被上调或下调表达后这些基因表达量以及脂类代谢生化指标的变化,分析它们在肝细胞脂类代谢过程中的调控关系,此结果将为家禽脂类代谢遗传机理的解析奠定良好的基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 菌株、质粒和试验动物

大肠杆菌 DH5 $\alpha$ 、*L-BABP* 真核表达载体均为本实验室保存,siRNA 由北京英骏生物技术有限公

司合成。体重无明显差异的 16~18 日龄的 AA 肉仔鸡购自东北农业大学孵化场。

### 1.2 主要试剂

质粒提取试剂盒和胶回收试剂盒购自 Axygen 生物科技有限公司;反转录相关试剂购自 Promega 公司;辣根过氧化物酶(HRP)标记的羊抗兔 IgG 和辣根过氧化物酶(HRP)标记的羊抗小鼠 IgG 购自北京中杉金桥生物技术有限公司;GAPDH 抗体和 BCA 蛋白浓度测定试剂盒(增强型)购自碧云天生物技术研究所;增强型 ECL 显色液和 RIPA 细胞裂解液购自哈尔滨海基生物技术有限公司;限制性内切酶购自宝生物工程(大连)有限公司;Real-time 试剂购自 Roche 生物公司;William E、胶原酶 IV 和胰蛋白酶购自 GIBCO 公司;总 RNA 提取试剂 Trizol 和转染试剂 lipofectamine2000 购自 Invitrogen 公司;优级胎牛血清购自天津灏洋生物制品有限公司;化学发光成像仪器购自北京赛智创业科技有限公司;总胆固醇(CHOL)、高密度脂蛋白(HDL)、低密度脂蛋白(LDL)和甘油三酯(TG)的检测试剂盒购自中生北控生物科技股份有限公司;其余试剂购自哈尔滨鑫丰生物有限公司。

### 1.3 鸡原代肝细胞培养

取 16~18 日龄 AA 仔鸡,手术前鸡禁食 3 h,无菌条件下打开腹腔,轻轻把肠道拉向躯体左侧,暴露肠系膜静脉,在其中 1 条肝门静脉中插管并剪断另一条肝门静脉,分别灌流 42 °C 预热的 A 液 500 mL (EDTA 1.861 g · L<sup>-1</sup>, HEPES 2.383 g · L<sup>-1</sup>, NaCl 8.006 g · L<sup>-1</sup>, KCl 0.224 g · L<sup>-1</sup> 和 Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> · 12H<sub>2</sub>O 1.074 g · L<sup>-1</sup>), B 液 100 mL (HEPES 2.383 g · L<sup>-1</sup>, NaCl 8.006 g · L<sup>-1</sup>, KCl 0.224 g · L<sup>-1</sup> 和 Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> · 12H<sub>2</sub>O 1.074 g · L<sup>-1</sup>), 于 37 °C 预热的 C 液 (HEPES 2.383 g · L<sup>-1</sup>, NaCl 8.006 g · L<sup>-1</sup>) 过程中每 5 min 震荡 1 次。消化完毕,加入培养液 20 mL (10% 胎牛血清、10<sup>-6</sup> mol · L<sup>-1</sup> 胰岛素、10<sup>-6</sup> mol 地塞米松、10 mg · L<sup>-1</sup> 维生素 C、40 mg · L<sup>-1</sup> 促肝细胞生成素和 100 mg · L<sup>-1</sup> 胰高血糖素及双抗的基础培养液,调 pH 为 7.4) 终止消化,200 目的不锈钢筛网过滤。滤液分装入离心管,800 r · min<sup>-1</sup> 离心 5 min;红细胞裂解液重悬沉淀,37 °C 静置 10 min,800 r · min<sup>-1</sup> 离心 5 min;再用红细胞裂解液重悬沉淀,800 r · min<sup>-1</sup> 离心 5 min;William E 培养基重悬沉淀,800 r · min<sup>-1</sup> 离心 5 min;PBS 重悬沉淀,800

$r \cdot \text{min}^{-1}$  离心 5 min; 将分离的肝细胞计数后, 按  $5 \times 10^5$  个  $\cdot \text{mL}^{-1}$  左右的密度接种, 置于 5%  $\text{CO}_2$  培养箱中 37 °C 培养, 每隔 24 h 换液洗去未贴壁的物质。待细胞汇合度达到 80%~90% 时, 此时的细胞可用于 *L-BABP* 基因干扰和过表达试验中。

#### 1.4 细胞转染

选择 lipofectamine2000 作为转染试剂, 具体的转染步骤(以 24 孔板为例): 首先将质粒 DNA 稀释于不含血清的培养基中, 室温孵育 5 min。再将 lipofectamine2000 稀释于不含血清的培养基中, 室温孵育 5 min。将 lipofectamine2000 稀释液滴加入 DNA 中, 混匀后, 室温孵育 20 min, 100  $\mu\text{L}$  上述混合液滴加到细胞培养液中, 在 37 °C, 5%  $\text{CO}_2$  条件下培养, 4~6 h 后换液, 以除去转染试剂。

#### 1.5 细胞蛋白的提取

去除培养液, 用 PBS 洗 1 遍, 胰酶消化细胞之后加入适当的培养基终止消化, 将终止消化的细胞转移进入 1.5 mL EP 管中, 2 000  $r \cdot \text{min}^{-1}$  离心 3 min, 加入用 PBS 悬浮沉淀, 2 000  $r \cdot \text{min}^{-1}$  离心 3 min。按照 6 孔板每孔加入 100~200  $\mu\text{L}$  含有 1 mmol  $\cdot \text{L}^{-1}$  PMSF(苯甲基磺酰氟)的细胞裂解液。充分裂解后, 振荡混匀, 室温静置 30 min, 12 000  $r \cdot \text{min}^{-1}$ , 取上清, 用 BCA 方法测定蛋白浓度, -80 °C 保存备用。

表 1 RT-PCR 特异性引物序列

Table1 Gene-sepecific primers used for RT-PCR

基因名称 Gene	GenBank 登录号 Accession No.	引物序列(5'-3')Primer sequence
<i>L-BABP</i>	AF380998	F:CCTCCATAATGGCATTTCAGT R:AGTAGTAATGTCAGCCTCTTT
<i>NONO</i>	NM_001031532.1	F:AGAAGCAGCAGCAAGAAC R:CCTCCATCCTCCTCAGT
<i>PPAR<math>\alpha</math></i>	NM_001001464	F:TTTAACGGAGTTCCAATCGC R:AAACCCTTACAACCTTCACAA
<i>CPT1</i>	NM_001012898	F:AGAGGGCGTGGACCAATAA R:CTGGGATGCGGGAGGTATT
<i>APOAI</i>	M96012	F:GCATTCGGGATATGGTGG R:CTCAGCGTGTCCAGGTTGT
<i>APOB</i>	DQ630943	F:GACTTGGTTACACGCCTCA R:TAACCTGCCTGTTATGCTC
<i>SREBP-1</i>	AY029224	F:GGTCCGGGCCATGTTGA R:CAGGTTGGTGC GGGTGA
<i>PERILIPIN</i>	NM_001127439	F:GGGGTGACTGGCGGTTGTA R:GCCGTAGAGGTTGGCGTAG
<i>L-FABP</i>	AY563636	F:GCAGAATGGGAATAAGTT R:TTGTATGGGTGATGGTGT

#### 1.6 Western blot

每孔蛋白上样量为 50  $\mu\text{g}$ , 经 SDS-PAGE 电泳分离后, 电转至 NC 膜上; 将膜放入脱脂牛奶中, 室温封闭 3 h, 用 PBST 洗涤后加入 1:3 000 稀释的一抗(本实验室保存的鸡 L-FABP 抗血清), 室温孵育 2 h; 洗涤后用 1:5 000 稀释的二抗(辣根过氧化物酶标记的羊抗兔 IgG), 室温振荡 1 h; 洗涤后用增强型 ECL 显色液显色 3 min, 化学发光成像系统进行成像。

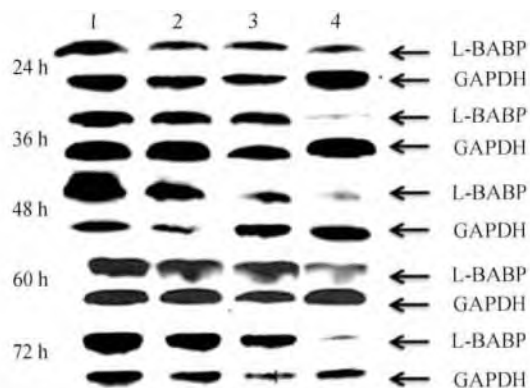
#### 1.7 RT-PCR 检测基因表达

脂类代谢相关基因(*PPAR $\alpha$* 、*CPT1*、*APOAI*、*APOB*、*ATGL4*、*SREBP1*、*PERILIPIN* 和 *L-FABP*)的 mRNA 表达情况, 采用 Real-time 方法进行检测。按照 Roche 公司提供的 Fast Start Universal SYBR Green Master(ROX)试剂盒说明书, 反应体系: ROX 5  $\mu\text{L}$ , Forward primer(30  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 0.1  $\mu\text{L}$ , reverse primer(30  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 0.1  $\mu\text{L}$ , Water 3.8  $\mu\text{L}$ , Template 1  $\mu\text{L}$ , 10 ng cDNA, 总体积为 10  $\mu\text{L}$ 。将上述混合物加到 ABI7500 系统中, 设置反应条件: 50 °C 激活 2 min; 95 °C 预变性 10 min; 95 °C 变性 15 s, 60 °C 延伸 60 s, 共 40 个循环。每个样品设 3 个孔重复。选择 *NONO*(Non-POU domain containing, octamer-binding, *NONO*)基因作为内参。用于分析这些基因表达水平的引物序列见表 1。引物由北京英骏生物技术有限公司合成。

## 2 结果

### 2.1 鸡 *L-BABP* 基因干扰和过表达效果检测

采用 Western blot 方法分析干扰组和对照组以及过表达组和对照组细胞中的 *L-BABP* 的表达差异。结果表明,在转染 *L-BABP* 的 siRNA 24、36、48、60 和 72 h 后,干扰组细胞中的蛋白表达量均显著低于对照组,过表达组细胞中的 *L-BABP* 蛋白表达量均显著高于对照组(图 1)。



1. 过表达组;2. 过表达对照组;3. 干扰对照组;4. 干扰组  
1. Overexpression; 2. Control of overexpression; 3. Control of interference; 4. Interference

图 1 *L-BABP* 基因干扰、过表达效果 Western blot 检测  
Fig. 1 Analysis of interference and overexpression effect of *L-BABP* by Western blot

### 2.2 *L-BABP* 基因干扰对脂类代谢相关基因在 mRNA 水平上的表达情况的影响

采用 RT-PCR 的方法,以 *NONO* 基因为内参检测干扰组和干扰对照组细胞中脂类代谢相关基因(*PPAR $\alpha$* 、*CPTI*、*APOAI*、*APOB*、*SREBPI*、*PERILIPIN* 和 *L-FABP*) 的表达情况,结果显示,*L-BABP* 基因干扰 36、48 和 60 h 时,*APOAI* 基因显著或极显著上升;24、36 和 60 h 时,*PERILIPIN* 基因极显著上升;24、36、48 和 60 h 时,*SREBPI* 基因极显著地上升,72 h 时,极显著下降;与 *PPAR $\alpha$* 、*CPTI*、*APOB* 和 *L-FABP* 基因表达无一致性规律(图 2)。

### 2.3 鸡 *L-BABP* 基因过表达对脂类代谢相关基因在 mRNA 水平上的表达情况的影响

RT-PCR 方法检测过表达组和对照组细胞中与脂类代谢相关基因(*PPAR $\alpha$* 、*CPTI*、*APOAI*、*APOB*、*SREBPI*、*PERILIPIN* 和 *L-FABP*) 的表达情况,结果显示:*L-BABP* 基因过表达 24、36 和 48 h 时,*APOAI* 和 *PERILIPIN* 基因极显著下降,

与 *PPAR $\alpha$* 、*CPTI*、*APOB*、*SREBPI* 和 *L-FABP* 基因表达无一致性规律(图 3)。

### 2.4 鸡 *L-BABP* 基因干扰对培养基中生化指标变化的影响

半自动生化分析仪测定 *L-BABP* 基因干扰之后培养基中生化指标变化,分别测定了总胆固醇、高密度脂蛋白、低密度脂蛋白和甘油三酯等 4 项生化指标,结果显示,*L-BABP* 基因干扰 24 和 72 h 时,培养基中总胆固醇含量极显著下降。*L-BABP* 基因干扰 24 h 时,培养基中高密度脂蛋白显著下降;60 h 时,极显著上升。*L-BABP* 基因干扰 24 和 72 h 时,培养基中低密度脂蛋白显著下降,48 和 60 h 时,极显著上升。*L-BABP* 基因干扰 24、60 和 72 h 时,培养基中甘油三酯显著或极显著上升(图 4)。

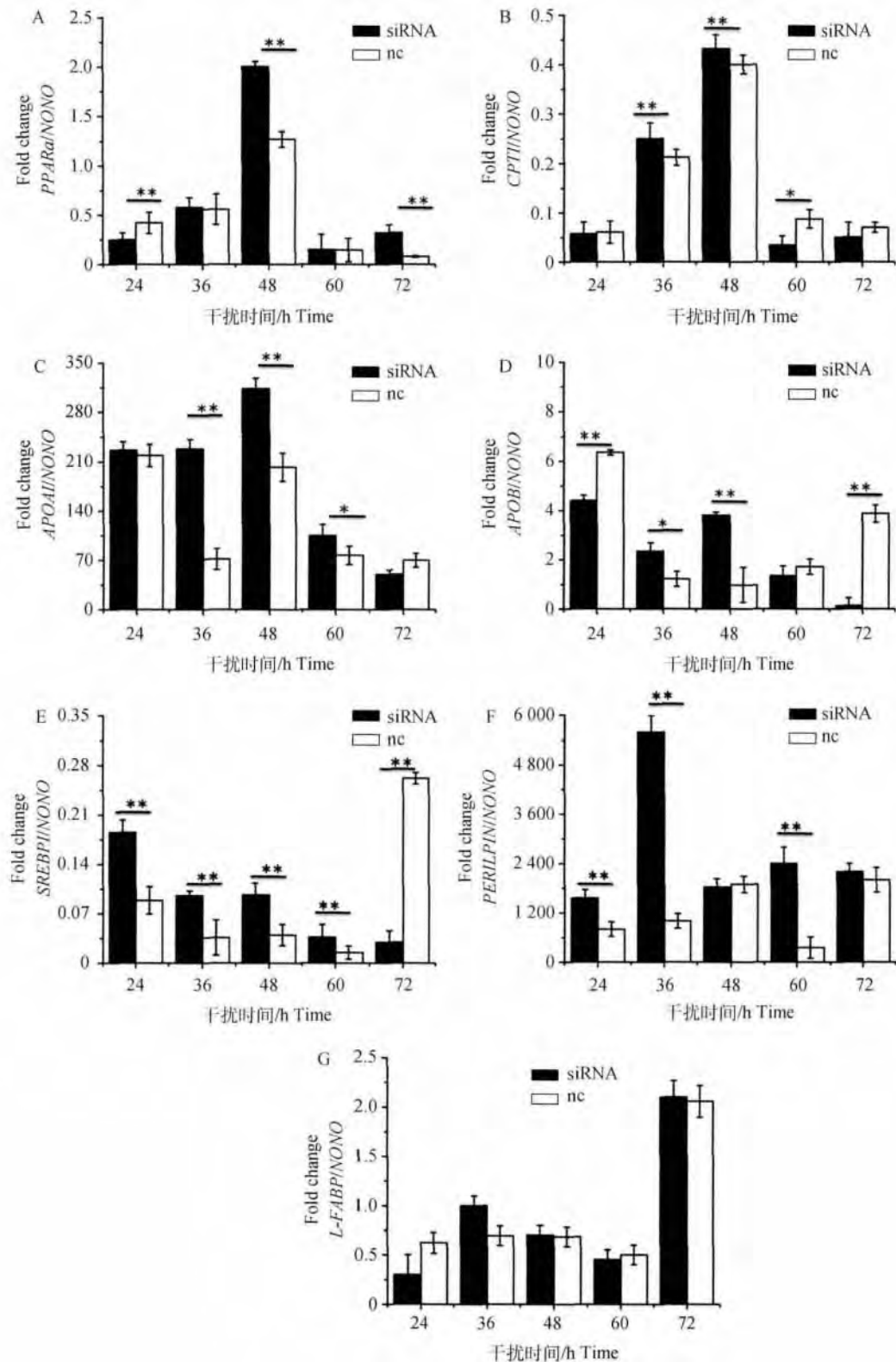
### 2.5 鸡 *L-BABP* 基因过表达对培养基中生化指标变化的影响

半自动生化分析仪测量 *L-BABP* 基因过表达之后培养基中生化指标变化,分别测量了总胆固醇、高密度脂蛋白、低密度脂蛋白和甘油三酯等 4 项生化指标,结果显示,*L-BABP* 过表达 24 和 72 h 时,培养基中的总胆固醇含量极显著上升。*L-BABP* 基因过表达 24 和 48 h 时,培养基中的高密度脂蛋白极显著下降,36 h 时,显著上升。*L-BABP* 基因过表达 36 h 时,培养基中的低密度脂蛋白极显著上升,48 和 72 h 时,显著或极显著下降。*L-BABP* 基因过表达 24 和 72 h 时,培养基中的甘油三酯含量极显著下降(图 5)。

## 3 讨论

禽脂类代谢及其调控与哺乳动物不尽相同而有其自身的特点,脂质合成主要是在肝中进行,而脂肪组织只是贮存的场所<sup>[9,11]</sup>。脂肪沉积取决于甘油三酯水平,肝外合成脂肪能力有限,日粮中的脂肪含量一般低于 10%,因此家禽脂类代谢过程中肝起着至关重要的作用<sup>[12]</sup>。与哺乳动物不同,禽类、两栖类、爬行类和鱼类等非哺乳动物肝中均有 *L-BABP* 基因的表达<sup>[13]</sup>,且特异性存在于鸡肝组织中<sup>[7]</sup>,预示着其在该种组织或细胞的生理过程中发挥重要的作用<sup>[14]</sup>,所以推测 *L-BABP* 可能在鸡脂类代谢中发挥重要的作用。

本实验室在生理条件下成功地从鸡肝组织中分离出单个游离、高活性肝细胞,并通过检测肝细胞中特异的蛋白 *L-FABP*<sup>[15]</sup> 和 *L-BABP* 基因,以及对

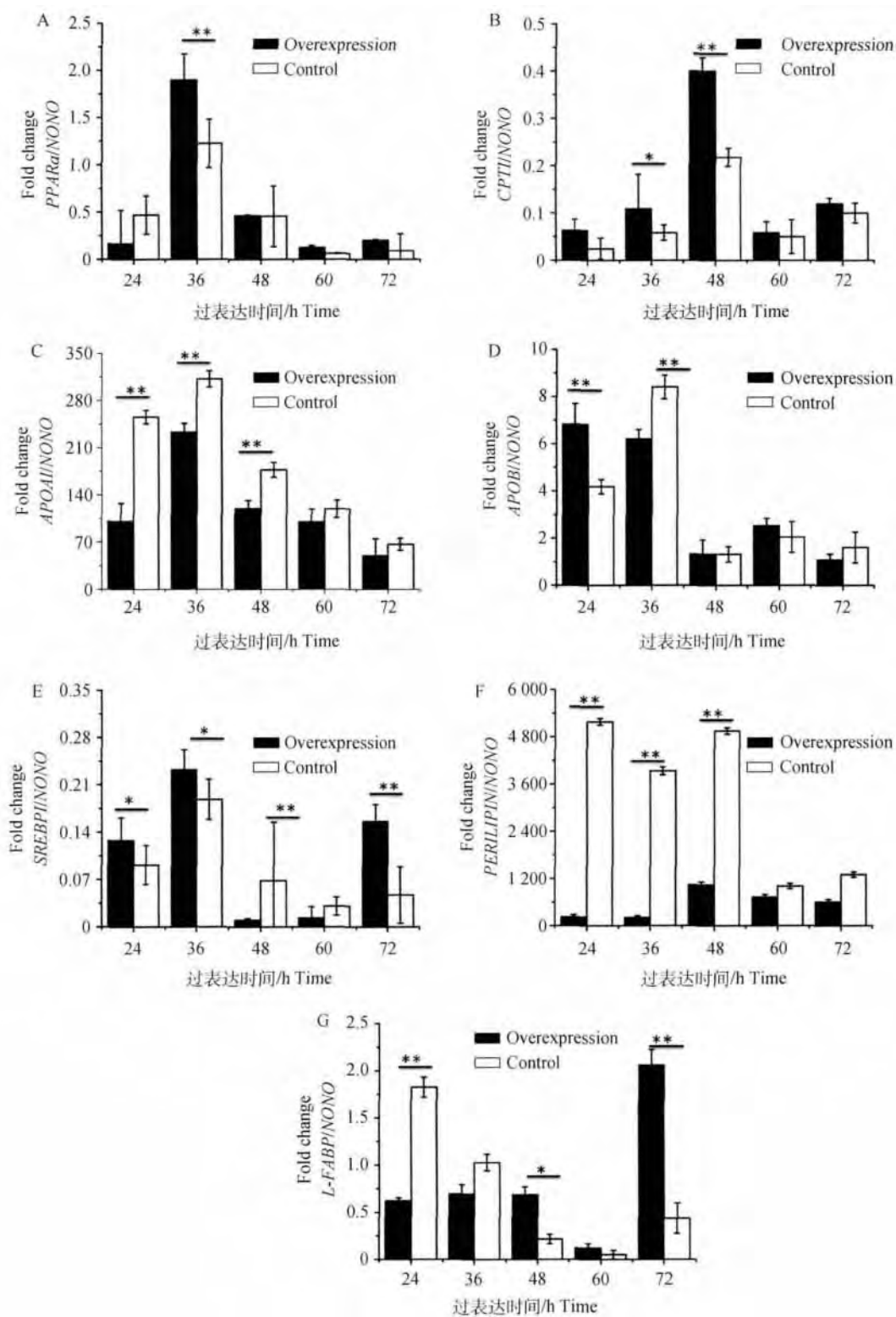


\*. 差异显著 ( $P < 0.05$ ); \*\*. 差异极显著 ( $P < 0.01$ ). 下同

\*. Means differ significantly ( $P < 0.05$ ); \*\*. Means highly differ significantly ( $P < 0.01$ ). The same as below

图2 *L-BABP* 基因干扰对脂类相关代谢基因变化的影响

Fig. 2 The effect of *L-BABP* interference on the expression levels of genes related to lipid metabolism

图3 *L-BABP* 基因过表达对相关脂类代谢基因变化的影响Fig. 3 The effect of *L-BABP* overexpression on expression levels of genes related to lipid metabolism

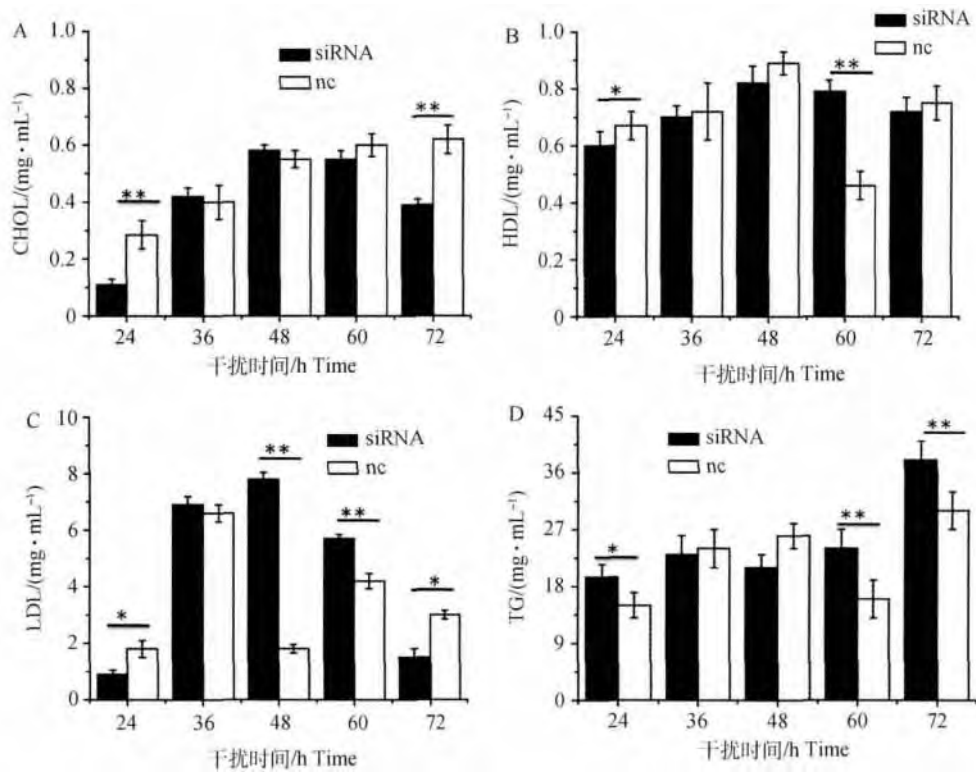


图 4 *L-BABP* 基因干扰对培养基中脂类相关生化指标变化的影响  
 Fig. 4 The effect of *L-BABP* interference on lipid changes related biochemical indicators in medium

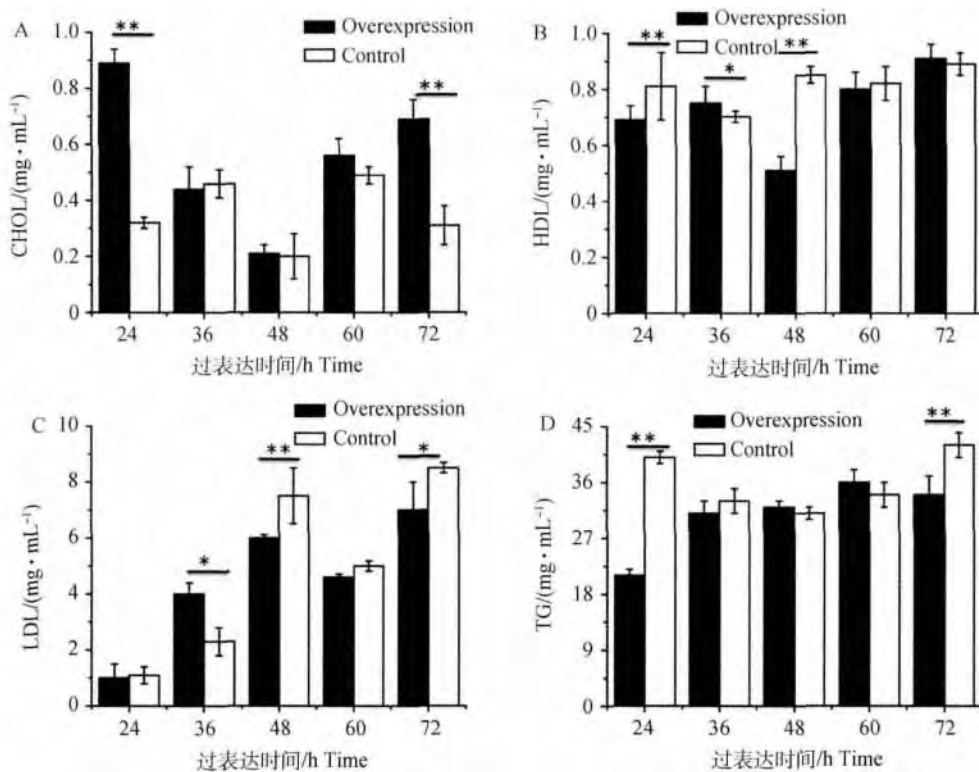


图 5 *L-BABP* 基因过表达对培养基中脂类相关生化指标变化的影响  
 Fig. 5 The effect of *L-BABP* overexpression on lipid changes related biochemical indicators in medium

所培养的肝细胞特有的形态学观察和特征性的超微结构的观察,最终鉴定出其试验材料是高浓度的鸡原代肝细胞<sup>[16]</sup>,为进一步研究 *L-BABP* 基因在肝中的功能研究提供可靠的试验材料。

晶体学结构研究证实 *L-BABP* 可以结合胆汁酸<sup>[17]</sup>,推测 *L-BABP* 可能参与肝内胆汁酸的运输并在胆汁酸代谢途径中发挥重要的作用。*L-BABP* 基因且具有较强的胆汁酸结合能力,胆汁酸具有较高的溶解性,在胆固醇代谢中具有重要作用。本研究发现,*L-BABP* 基因表达量与培养基中的总胆固醇含量有显著正相关关系,因此本研究推测 *L-BABP* 可能通过参与胆汁酸代谢途径,间接参与到总胆固醇的代谢过程中起重要作用。同时,本研究发现,*L-BABP* 基因表达量与培养基中的甘油三酯含量有负相关关系,禽类的脂肪沉积取决于甘油三酯水平,结合赵玉芳等发现该基因 SNP 位点显著影响腹脂重、腹脂率和体重等性状<sup>[10]</sup>,本研究推测 *L-BABP* 基因参与到禽类脂肪沉积过程中。

禽类肝内脂肪酸代谢主要包括 3 个环节:肝内脂肪合成、脂肪的脂解和肝合成的脂肪向肝外组织的转运。禽类脂肪的转运主要是通过血浆 VLDL 途径实现的,本研究发现,*L-BABP* 基因与 *APOAI* 基因表达量呈负相关关系,*APOAI* 是高密度脂蛋白的重要组成成分,是体内胆固醇逆向转运过程的关键因子<sup>[18]</sup>,禽类脂肪的转运主要是通过血浆 VLDL 途径实现的,血浆中 VLDL 变化与鸡腹部脂肪沉积显著相关,*APOAI* 基因与腹脂重和腹脂率显著相关<sup>[19-21]</sup>,对血浆 VLDL 的合成具有调节作用<sup>[22]</sup>,同时,本研究发现 *L-BABP* 与胆固醇含量呈正相关关系,因此,本研究推测 *L-BABP* 基因通过影响 *ApoAI* 基因参与到胆固醇运输过程中。

禽类肝内脂类发生脂解作用,围脂滴蛋白(Perilipin)在酯酶由胞液易位至脂滴表面的脂解反应中发挥了重要的作用,基础状态下,Perilipin 位于脂滴表面作为生理屏障,防止胞浆内的脂酶接近脂滴,使甘油三酯不被脂肪酶水解。在脂解刺激下,脂滴发生断裂,形成许多微脂滴,其总表面积增大,而 Perilipin 的量没有显著增加,因此 *PERILIPIN* 的屏蔽作用相对减弱<sup>[23]</sup>。在肝细胞中过表达 *PERILIPIN* 基因促进甘油三酯的沉积<sup>[24]</sup>,填饲四川白鹅和朗德鹅的过程中,肝细胞中 *PERILIPIN* 基因表达以及甘油三酯都显著升高<sup>[25]</sup>。本研究发现,干扰 *L-BABP* 基因使 *PERILIPIN* 基因表达量明显上升;

过表达 *L-BABP* 基因使 *PERILIPIN* 基因表达量显著或极显著下降。本研究推测 *L-BABP* 基因通过对 *PERILIPIN* 基因的影响,对脂解反应和甘油三酯含量有一定的影响。

结合研究结果和文献报道,本研究推测,*L-BABP* 基因可能参与到禽类脂肪沉积过程,总胆固醇的代谢和脂解过程中,具体的研究需要进一步深入研究。

#### 4 结 论

本研究在鸡肝细胞中进行 *L-BABP* 基因功能研究,发现 *L-BABP* 基因对 *ApoAI* 和 *PERILIPIN* 基因的表达量有显著或极显著的影响,*L-BABP* 基因表达量与肝细胞中的甘油三酯和总胆固醇含量有存在负相关,这些结果为进一步探讨 *L-BABP* 基因在鸡肝中脂类代谢过程中的作用以及该基因与脂类代谢相关基因间的网络调控关系提供了有益参考。

#### 参考文献 (References):

- [1] SPECTOR A A. Structure and lipid binding properties of serum albumin[J]. *Methods Enzymol*, 1985, 128:320-339.
- [2] VEERKAMP J, PEETERS R, MAATMAN R. Structural and functional features of different types of cytoplasmic fatty acid-binding proteins[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Lipids and Lipid Metabolism*, 1991, 1081:1-24.
- [3] FLOWER D. The lipocalin protein family: Structure and function[J]. *Biochem J*, 1996, 318:1-14.
- [4] VEERKAMP J, VAN KUPPEVELT T, MAATMAN R, et al. Structural and functional aspects of cytosolic fatty acid-binding proteins[J]. *Prostaglandins, Leukotrienes Essential Fatty Acids*, 1993, 49:887-906.
- [5] NICHESOLA D, PERDUCA M, CAPALDI S, et al. Crystal structure of chicken liver basic fatty acid-binding protein complexed with cholic acid[J]. *Biochemistry*, 2004, 43:14072-14079.
- [6] CAPALDI S, GUARIENTO M, PERDUCA M, et al. Crystal structure of axolotl (*Ambystoma mexicanum*) liver bile acid binding protein bound to cholic and oleic acid[J]. *Proteins: Structure, Function, Bioinformatics*, 2006, 64:79-88.
- [7] 张庆秋, 石 慧, 丁 宁, 等. 鸡肝脏胆汁酸结合蛋白 (*L-babp*) 抗血清制备及组织表达特性分析[J]. 农业



- 生物技术学报,2011,19:571-576.
- ZHANG Q Q, SHI H, DING N, et al. Antiserums preparation and tissue expression analyses of chicken liver bile acid binding protein(L-BABP)[J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2011, 19 (3): 571-576. (in Chinese)
- [8] KRAMER W, CORSIERO D, FRIEDRICH M, et al. Intestinal absorption of bile acids; Paradoxical behaviour of the 14 kda ileal lipid-binding protein in differential photo affinity labelling[J]. *Biochem J*, 1998, 333:335-341.
- [9] O'HEA E, LEVEILLE G. Lipogenesis in isolated adipose tissue of the domestic chick(*gallus domesticus*) [J]. *Comp Biochem Physiol*, 1968, 26: 111-120.
- [10] ZHAO Y F, RONG E G, WANG S Z, et al. Identification of SNPs of the L-BABP and L-FABP and their association with growth and body composition traits in chicken[J]. *J Poult Sci*, 2013, 50: 300-310.
- [11] GRIFFIN H D, GUO K, WINDSOR D, et al. Adipose tissue lipogenesis and fat deposition in leaner broiler chickens[J]. *J Nutr*, 1992, 122: 363-368.
- [12] 尹靖东, 齐广海, 霍启光, 等. 家禽脂类代谢调控机理的研究进展[J]. *动物营养学报*, 2000, 12: 1-7.
- YIN J D, QI G H, HUO Q G. Advances in modulation of lipid metabolism in poultry[J]. *Acta Zoon Ut Rim enta Sinica*, 2000, 12: 1-7. (in Chinese)
- [13] 王启贵, 张庆秋, 王丽辉, 等. 鸡肝脏脂肪酸结合蛋白的研究进展[J]. *黑龙江畜牧兽医*, 2012, 1: 33-35.
- WANG Q G, ZHANG Q Q, WANG L H, et al. Research progress of chicken liver fatty acid binding protein [J]. *Heilongjiang Animal Husbandry and Veterinary*, 2012, 1: 33-35. (in Chinese)
- [14] ZIMMERMAN A, VEERKAMP J. New insights into the structure and function of fatty acid-binding proteins[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2002, 59: 1096-1116.
- [15] 高广亮. 鸡 L-FABP、Lb-FABP 基因的转录调控及功能研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2013.
- GAO G L. Study on transcriptional regulation and function of L-FABP and Lb-FABP genes[D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2013. (in Chinese)
- [16] 牟彦双. 鸡胰岛素样生长因子结合蛋白-2 基因的功能研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2007.
- MU Y S. The function of chicken insulin-like growth factor binding protein-2 gene [D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2013. (in Chinese)
- [17] SCAPIN G, SPADON P, MAMMI M, et al. Crystal structure of chicken liver basic fatty acid-binding protein complexed with cholic acid[J]. *Mol Cell Biochem*, 1990, 98: 95-99.
- [18] 王云龙, 卢恕来, 陈保生, 等. 载脂蛋白 AI 结构及其功能[J]. *生命的化学*, 2008, 28: 279-282.
- WANG Y L, LU S L, CHEN B S, et al. Structure and function Apolipoprotein AI [J]. *Chemistry of Life*, 2008, 28: 279-282. (in Chinese)
- [19] WANG D, WANG N, LI N, et al. Identification of differentially expressed proteins in adipose tissue of divergently selected broilers[J]. *Poult Sci*, 2009, 88: 2285-2292
- [20] 王启贵, 李辉, 李宁, 等. Apo-AI 基因多态性与鸡生长和体组成性状的相关研究[J]. *畜牧兽医学报*, 2005, 36(8): 752-754.
- WANG Q G, LI H, LI N, et al. Polymorphisms of Apo-AI gene associated with growth and body composition traits in chicken [J]. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 2005, 36 (8): 752-754. (in Chinese)
- [21] 乔书培, 王维世, 荣恩光, 等. 鸡 Apo-AI 基因 g. 163 A > T 单核苷酸多态性的功能性分析[J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2014, 30(8): 824-830.
- QIAO S P, WANG W S, RONG E G, et al. Functional analysis of chicken Apo-AI g. -163 A > T SNP[J]. *Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 2014, 30(8): 824-830. (in Chinese)
- [22] HERMIER D, CHAPMAN M J. Plasma lipoproteins and fattening; description of a model in the domestic chicken, *Gallus domesticus* [J]. *Reprod Nutr Dev*, 1985, 25(1B): 235-241.
- [23] 邓其兰, 余冰, 陈代文, 等. 围脂滴蛋白 (Perilipin) 在脂质代谢中的功能[J]. *饲料工业*, 2009, 30: 8-9.
- DENG Q L, YU B, CHENG D W, et al. The function of perilipin in lipid metabolism [J]. *Feed Industry*, 2009, 30: 8-9. (in Chinese)
- [24] BRASAEMLE D L, RUBIN B, HARTEN I A, et al. Perilipin A increases triacylglycerol storage by decreasing the rate of triacylglycerol hydrolysis[J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(49): 38486-38489.
- [25] 潘志雄, 王继文, 唐慧, 等. 鹅 Perilipin 基因部分片段的克隆、不同品种及填饲对组织 mRNA 表达水平的影响[J]. *畜牧兽医学报*, 2010, 41(8): 939-943.
- PAN Z X, WANG J W, TANG H, et al. Cloning of goose *Perilipin* gene, tissues expression and the effect of overfeeding on its mrna level[J]. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 2010, 41(8): 939-943. (in Chinese)

(编辑 郭云雁)