

鸡 Fsp27 对前脂肪细胞中大脂滴形成的影响

王宇祥^{1,2,3}, 王鑫雨^{1,2,3}, 庞永佳^{1,2,3}, 邹亦冲^{1,2,3}, 刘捷^{1,2,3}, 曹志平^{1,2,3}, 李辉^{1,2,3}

(1. 农业农村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)

摘要: Fsp27 是 CIDE (Cell-death-inducing DNA-fragmentation-factor-like effector) 蛋白家族一员。研究表明, 在哺乳动物脂肪细胞中, Fsp27 富集于脂滴表面并聚集在脂滴与脂滴的接触位点 (LD-LD contact site, LDCS), 促进脂滴之间融合进而形成更大的脂滴。为探究 Fsp27 对鸡前脂肪细胞中脂滴融合的作用, 利用过表达和荧光染色技术, 通过比较脂滴大小的 4 个指标: 脂滴大小分布、平均脂滴直径、单细胞内含大脂滴 (直径大于 2.5 μm) 数量, 含大脂滴细胞数占总细胞数百分比, 发现过表达 Fsp27 组中的脂滴大小、分布等特征均与对照组有显著差异。结果表明, Fsp27 对大脂滴形成的影响在鸡前脂肪细胞分化的 24 和 48 h 最为显著 ($P < 0.05$), 说明与哺乳动物类似, 鸡 Fsp27 对前脂肪细胞中大脂滴形成同样发挥促进作用。

关键词: 鸡; 脂滴; Fsp27; 荧光染色

中图分类号: S831

文献标志码: A

文章编号: 1005-9369(2023)12-0052-08

王宇祥, 王鑫雨, 庞永佳, 等. 鸡 Fsp27 对前脂肪细胞中大脂滴形成的影响[J]. 东北农业大学学报, 2023, 54(12): 52-59. DOI: 10.19720/j.cnki.issn.1005-9369.2023.12.006.

Wang Yuxiang, Wang Xinyu, Pang Yongjia, et al. Effects of chicken Fsp27 on formation of large lipid droplets in preadipocytes[J]. Journal of Northeast Agricultural University, 2023, 54(12): 52-59. (in Chinese with English abstract) DOI: 10.19720/j.cnki.issn.1005-9369.2023.12.006.

Effects of chicken Fsp27 on formation of large lipid droplets in preadipocytes/WANG Yuxiang^{1,2,3}, WANG Xinyu^{1,2,3}, PANG Yongjia^{1,2,3}, ZOU Yichong^{1,2,3}, LIU Jie^{1,2,3}, CAO Zhiping^{1,2,3}, LI Hui^{1,2,3} (1. Key Laboratory of Chicken Genetics and Breeding, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Harbin 15030, 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)

Abstract: Fsp27 is a member of the CIDE (cell-death-inducing DNA-fragmentation-factor-like effector) protein family. Mammalian studies have shown that in adipocytes, Fsp27 is enriched on the surface of lipid droplets and accumulates at the LD-LD contact site (LDCS), which can promote the fusion between lipid droplets to form larger lipid droplets. In the present study, using overexpression and fluorescence staining techniques, it could be found that the characteristics of lipid droplet size and distribution in the overexpression of Fsp27 group were significantly different from those in the control

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (32072704)

作者简介: 王宇祥 (1977-), 男, 教授, 博士, 博士生导师, 研究方向为家禽分子遗传。E-mail: wyx2000@neau.edu.cn

group by comparing four indicators of lipid droplet size: distribution of lipid droplet size, average lipid droplet diameter, the number of large lipid droplets (with a diameter of more than 2.5 μm) in a single cell, and the percentage of cells containing large lipid droplets in the total cells. Taken together, the effect of Fsp27 on the formation of large lipid droplets was most significant at 24 h and 48 h of chicken preadipocyte differentiation ($P < 0.05$), indicating that chicken Fsp27 promoted the formation of large lipid droplets similar to mammals.

Key words: chicken; lipid droplets; Fsp27; fluorescent staining

机体内过度脂肪沉积问题是影响肉鸡业发展的重要因素之一。脂肪组织贮脂能力是由脂肪细胞数量和体积决定,而脂肪细胞体积增加主要由脂滴(Lipid droplets, LD)生长引起^[1]。脂滴是一个多功能细胞器,其生成及动态变化是机体脂质代谢调控关键^[2]。脂质,如脂肪酸(Fatty acids, FAs)、胆固醇和神经酰胺,被细胞吸收后,通过内质网上的脂质合成途径被重塑和酯化成中性脂质,并被隔离到脂滴核心。在细胞生长活跃或营养缺乏时,这些储存的中性脂质发生脂解或脂噬,为细胞生长提供大分子,并为其他细胞过程提供燃料^[3]。脂滴存在于酵母及动物细胞内,具有独特亚细胞结构^[4]。其以中性脂质为核心,即胆固醇酯(Cholesteryl ester, CE)和甘油三酯(Triacylglycerol, TAG),外覆单层磷脂^[5]。许多蛋白质镶嵌在脂滴单层磷脂外表面,对于维持脂滴结构、平衡脂质、传递讯号具有重要作用。

Fsp27(又名Cidec)是近年发现的一种脂滴表面结合蛋白。作为DNA断裂因子相似蛋白(Cell-death-inducing DNA-fragmentation-factor-like effector, CIDE)家族一员,Fsp27是调控脂滴发育和脂质沉积的关键因子^[6-8]。Fsp27定位于脂滴表面并在脂肪组织和脂肪肝中高表达;在脂肪细胞中,其可促进脂滴增大^[9]。哺乳动物研究表明,Fsp27蛋白主要聚集于脂滴表面,并富集于脂滴与脂滴的连接位点(Lipid droplet contact site, LDSC),介导脂滴之间的相互融合进而形成单个大脂滴^[10-12]。然而,有关Fsp27对家禽脂肪细胞中脂滴的作用尚未见报道。

本研究以永生化鸡前脂肪细胞为试验模型,利用基因过表达及荧光染色技术,通过统计分析不同分化阶段前脂肪细胞内脂滴大小差异,探究Fsp27对鸡前脂肪细胞中大脂滴形成的影响。研究结果为阐明鸡Fsp27基因生物学功能,揭示鸡脂肪组织生长发育遗传机制奠定基础,为脂类代谢疾

病预防和治疗提供重要理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料及试剂

本研究中所用永生化鸡前脂肪细胞2系(Immortalized chicken preadipocyte line 2, ICP2)为农业农村部鸡遗传育种重点实验室前期构建、冻存^[13],pCMV-Myc真核表达载体为本实验室保存。胎牛血清购自Biological Industries (BioInd)公司(以色列);DMEM/F12干粉培养基购自Gibco公司(美国);油酸钠购自Sigma公司(美国);TRIzol试剂盒购自Invitrogen公司(美国);PrimeScript™ RT reagent Kit with gDNA Eraser、Eco R I、Xho I等限制内切酶、T₄DNA连接酶均购自宝日医生物技术(北京)有限公司;BODIPY 493/503购自GlpBio公司(美国);DAPI染色液购自生工生物工程(上海)公司;4%多聚甲醛(不含DEPC)购自博士德生物工程有限公司;Myc抗体(小鼠单抗)、RIPA裂解液(强)、抗荧光淬灭封片液均购自碧云天生物技术有限公司;HRP标记山羊抗小鼠IgG购自北京中杉金桥生物技术有限公司。

1.2 方法

1.2.1 鸡Fsp27真核表达质粒构建

根据NCBI RefSeq数据库中鸡Fsp27基因序列(Accession No.: NM_001277678.1)设计特异性引物Fsp27-F1/Fsp27-R1,用于扩增鸡Fsp27基因全长CDS,上下游引物分别引入Eco R I和Xho I酶切位点(下划线表示),片段长度为732 bp。引物序列如下:

Fsp27-F1 5' CGGAATTCGGATGGATTACGCC AAGTCCCTGA 3'

Fsp27-R1 5' CCCTCGAGTCACTGCAGCATCTTGCTGGGAG 3'

首先使用TRIzol试剂盒抽提鸡腹部脂肪组织总

RNA, 而后使用 PrimeScript™ RT 试剂盒将 2 μg 总 RNA 反转录成为 cDNA; 以此 cDNA 为模板进行扩增, 使用 LA Taq 酶对鸡 *Fsp27* 基因全长编码区进行 PCR 试验, 反应条件是: 94 ℃ 2 min; 98 ℃ 30 s, 60 ℃ 30 s, 72 ℃ 2 min, 30 个循环; 72 ℃ 5 min; 将扩增产物连接到 pEASY-T1 Simple 载体上后, 再亚克隆到 pCMV-Myc 真核表达载体上; 构建成功后使用 *Eco* R I 和 *Xho* I 双酶切鉴定 *Fsp27*-Myc 质粒后, 由上海英骏生物技术有限公司测序, 确认是否构建成功。

1.2.2 鸡前脂肪细胞复苏与培养

将冻存的 ICP2 细胞置于 37 ℃ 水浴锅迅速度过冰晶期后, 转移至洁净的 15 mL 离心管内, 加入 5 mL 完全培养基吹匀; 1 000 r·min⁻¹ 离心 5 min 后弃上清, 加入 5 mL 完全培养基悬浮细胞; 将悬浮细胞转移至 25 cm² 培养瓶内, 再置于 37 ℃, 5% CO₂ 培养箱内培养。

待 ICP2 细胞培养至汇合度大于 90% 时, 弃去细胞培养基, 加入 0.25% 胰蛋白酶和 0.04% EDTA 混合消化液, 于 37 ℃ 消化 1 min 至细胞呈流沙状; 加入 5 mL 完全培养基终止消化, 按照比例传代, 并置于 37 ℃, 5% CO₂ 培养箱中培养。

1.2.3 鸡前脂肪细胞转染及诱导分化

本研究转染体系和操作步骤严格按照 Lipofectamine® 2000 转染试剂 (Invitrogen, 美国) 说明书进行。简述如下: 待细胞汇合度为 50%~60% 时转染。用 100 μL Opti-MEM® I 分别稀释 6 μL Lipofectamine 2000 和 1~2 μg 质粒, 两管混合后室温孵育 10 min; 将混合液体加入至细胞培养基液面以下, 摇晃均匀, 培养板继续置于 37 ℃, 5% CO₂ 培养箱中培养, 转染后 6 h 换液。

转染 24 h 后, 更换含油酸 (200 μmol·L⁻¹) 诱导培养基促使 ICP2 细胞分化, 此时记为 0 h, 而后每 24 h 更换诱导培养基, 用于荧光染色试验。

1.2.4 Western blot

用细胞裂解液 (含 1 m MPMSF) 收集细胞总蛋白, 样品混合均匀后置于冰上 30 min; 10 000 r·min⁻¹, 4 ℃ 离心 5 min, 取上清, 加入 6×Protein loading buffer, 煮沸 5 min; 蛋白经 SDS-PAGE 电泳分离后, 在 200 mA, 4 ℃ 条件下转移至 NC 膜上; 将 NC 膜置于含 5% 脱脂奶粉 PBST 缓冲液中室温封闭 2 h, PBST 清洗后加入 1:1 000 稀释的一抗抗体 (Myc 抗

体), 4 ℃ 孵育过夜; PBST 清洗后加入 1:5 000 稀释的二抗抗体 (HRP 标记山羊抗小鼠 IgG), 室温孵育 2 h; 最后用 ECL 显色液显色, 并于凝胶成像系统中曝光。

1.2.5 荧光染色

进行荧光染色的细胞需在细胞爬片上培养。荧光染色的基本流程简述如下: 首先用 4% 多聚甲醛固定细胞 20 min, 其次使用 BODIPY 493/503 工作液 (1:1 000 稀释) 室温避光孵育细胞 20 min, 再使用 DAPI 工作液 (1:1 000 稀释) 室温避光孵育细胞 10 min, 最后挑取细胞爬片置于载玻片上, 用抗荧光淬灭封片液封片。染色完成后立即置于荧光显微镜下观察、记录或置于 -20 ℃ 避光保存。

在荧光染色试验中, 本研究使用 NIS-Elements F (Nikon, 日本) 显微摄影图像处理软件拍摄图片, 使用 Photoshop CS2 软件对单张图像加工处理 (包括放大选择区域), 使用 Image ProPlus 软件测定脂滴大小。

1.2.6 统计分析

本研究所有数据均使用 JMP Pro16 软件进行统计分析。数据表示为平均值 (Mean) ± 标准误差 (SE)。分为对照组和试验组, 对照组为转染 pCMV-Myc 空载体, 试验组为转染 *Fsp27*-Myc 质粒; 每组设置 3 个生物学重复, 所有试验至少独立重复 3 次。两组数据比较采用 Student's *t*-test, *P* < 0.05 表示差异显著。

2 结果与分析

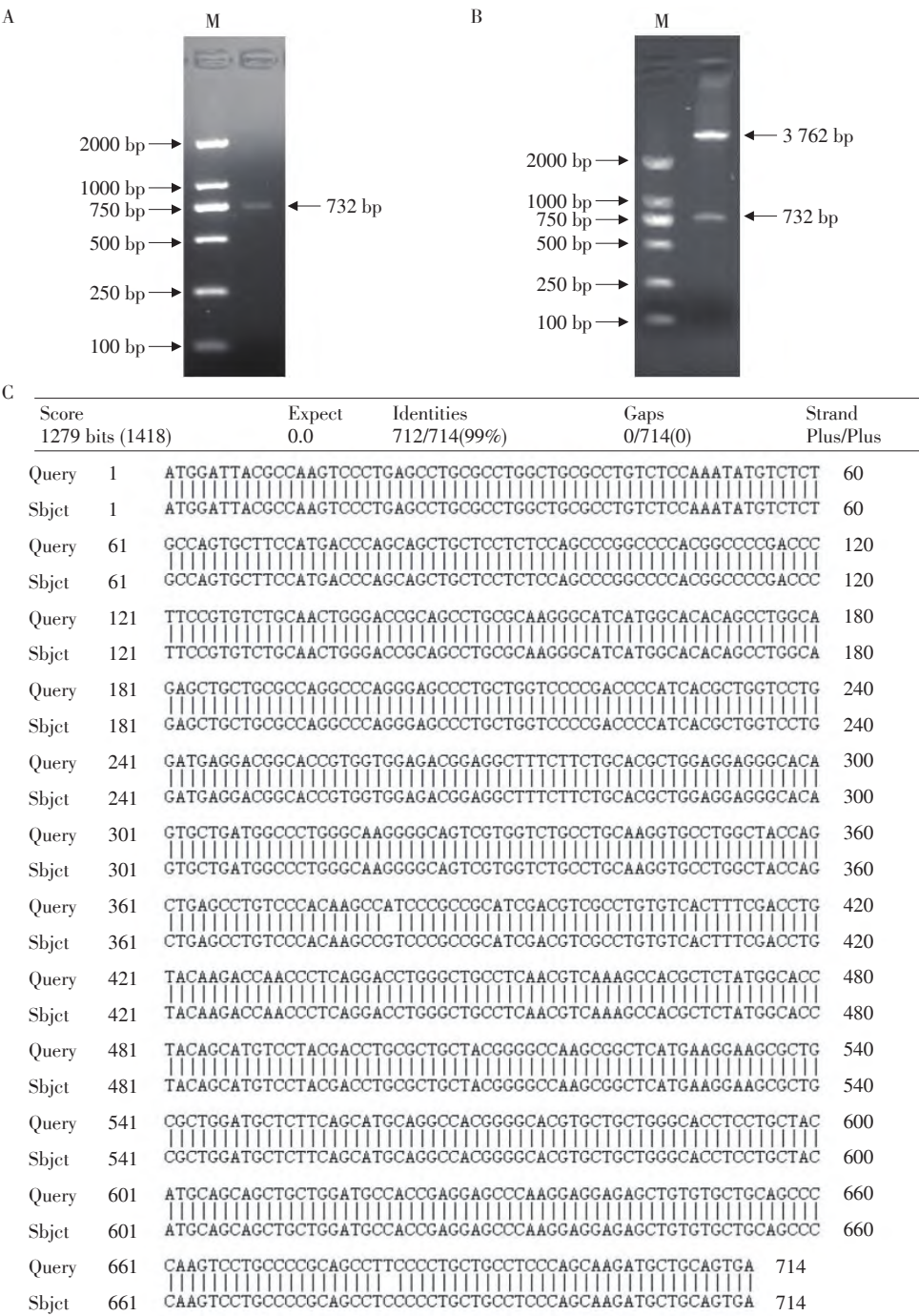
2.1 鸡 *Fsp27* 基因真核表达质粒构建

本研究以鸡腹部脂肪组织 cDNA 为扩增模板, 利用鸡 *Fsp27* 基因克隆引物 *Fsp27*-F1 和 *Fsp27*-R1 进行 PCR 扩增, 结果得到 1 条特异性条带, 如图 1A 所示; 测序后确定该片段长度为 732 bp, 与预测的目的片段长度一致。将该目的片段回收后, 亚克隆到 pCMV-Myc 载体上, 获得鸡 *Fsp27*-Myc 真核表达质粒 (简称 *Fsp27*-Myc 质粒)。使用 *Eco* R I、*Xho* I 双酶切 *Fsp27*-Myc 质粒的结果显示, 载体和目的基因条带长度均与理论值相符, 如图 1B 所示, 再次进行测序和比对的结果表明重组质粒构建成功, 如图 1C 所示。

2.2 鸡 *Fsp27*-Myc 质粒过表达效果检测

本研究在 ICP2 细胞生长至 50%~60% 汇合度

时，分别转染 Fsp27-Myc 质粒(过表达组)和 pC-MV-Myc 质粒(对照组)，在 48 h 时收集细胞提取总蛋白，利用 Western blot 方法分析过表达组与对照组细胞中 Fsp27 蛋白表达情况。

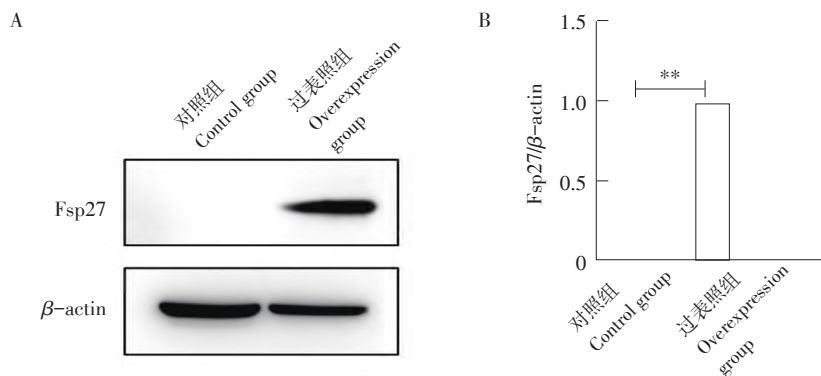


A-鸡 Fsp27 基因 PCR 扩增结果；B-Fsp27-Myc 重组质粒酶切鉴定结果；C-测序结果与 NCBI 中序列比对
A-PCR results of chicken Fsp27 gene; B-Results of restriction enzyme digestion of the Fsp27-Myc recombinant plasmid; C-Comparison of sequencing results with sequences in NCBI

图1 鸡 Fsp27 基因真核表达质粒的构建

Fig. 1 Construction of chicken Fsp27 gene eukaryotic expression plasmid

结果显示，过表达组细胞中鸡 Fsp27 蛋白表达量显著高于对照组(见图2)，说明本研究构建的鸡 Fsp27-Myc 质粒可有效上调鸡 Fsp27 蛋白表达。



A-Fsp27 过表达情况; B-Fsp27 过表达水平的灰度分析。“**”表示差异极显著($P<0.01$)。

A-Overexpression of Fsp27; B-Gray analysis of Fsp27 overexpression level. “**” indicates that the difference is extremely significant ($P<0.01$).

图2 过表达后 Fsp27 在鸡前脂肪细胞中表达情况

Fig. 2 Expression of Fsp27 in chicken preadipocytes after overexpression

2.3 鸡 Fsp27 对前脂肪细胞中大脂滴形成的影响

为确定鸡 Fsp27 对前脂肪细胞中大脂滴形成的影响,本研究在 ICP2 细胞中转染 Fsp27-Myc 质粒(过表达组)或 pCMV-Myc 质粒(对照组),转染 24 h 后添加 $200 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 油酸诱导细胞分化;在分化后不同时间点(24、48、72 和 96 h),对细胞中脂滴进行荧光染色及显微图像分析,统计各个时间点脂滴 4 个指标:脂滴大小分布、平均脂滴直径、单细胞内含大脂滴(直径大于 $2.5 \mu\text{m}$)数量、含大脂滴细胞数占总细胞数百分比。

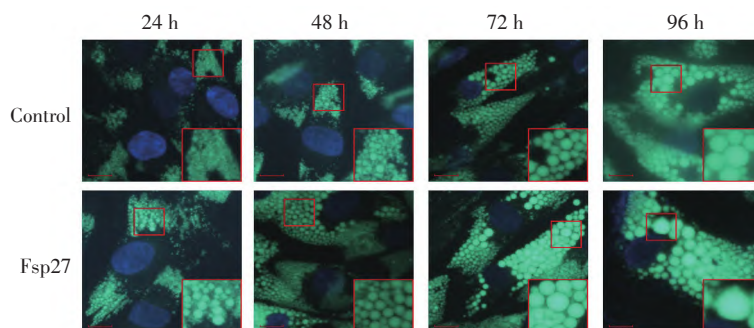
为方便展示,本研究选取典型视野下各组单个细胞内最大脂滴处,框选相同区域放大,如图 3 所示。横向比较,在前脂肪细胞分化 24、48、72 和 96 h 时,对照组及过表达组中脂滴直径均随分化时间延长而加大;纵向比较,在前脂肪细胞分化各个时间点,过表达组中最大脂滴直径始终大

于对照组细胞。

为更精准分析过表达 Fsp27 对鸡前脂肪细胞中大脂滴形成的影响,本研究以细胞形态完整、无重叠,同时脂滴清晰可辨为原则,在 3 次生物学重复中共选取 300 个细胞(每次生物学重复中随机选取 100 个细胞),对细胞内脂滴大小及分布进行测量及统计分析。

脂滴大小分布结果显示,在各分化时间点,过表达组细胞中占比最多的脂滴直径大于对照组细胞,过表达组细胞中最大脂滴直径显著大于对照组细胞($P<0.05$,见表 1、图 4)。

平均脂滴直径结果显示,在前脂肪细胞分化 24、48 和 72 h 时,过表达组细胞中平均脂滴直径显著高于对照组细胞平均脂滴直径($P<0.05$,见图 5A),在前脂肪细胞分化 96 h 时,两组之间无显著差异。



绿色为脂滴;蓝色为细胞核。左下角标尺为 $10 \mu\text{m}$ 。Fsp27-过表达组; Control-对照组。

Green is the lipid droplet; Blue is the nucleus. The scale in the lower left corner is $10 \mu\text{m}$. Fsp27-Overexpression group; Control-Control group.

图3 过表达鸡 Fsp27 对前脂肪细胞分化过程中脂滴大小的影响

Fig. 3 Effects of overexpression of Fsp27 on lipid droplet size during preadipocyte differentiation

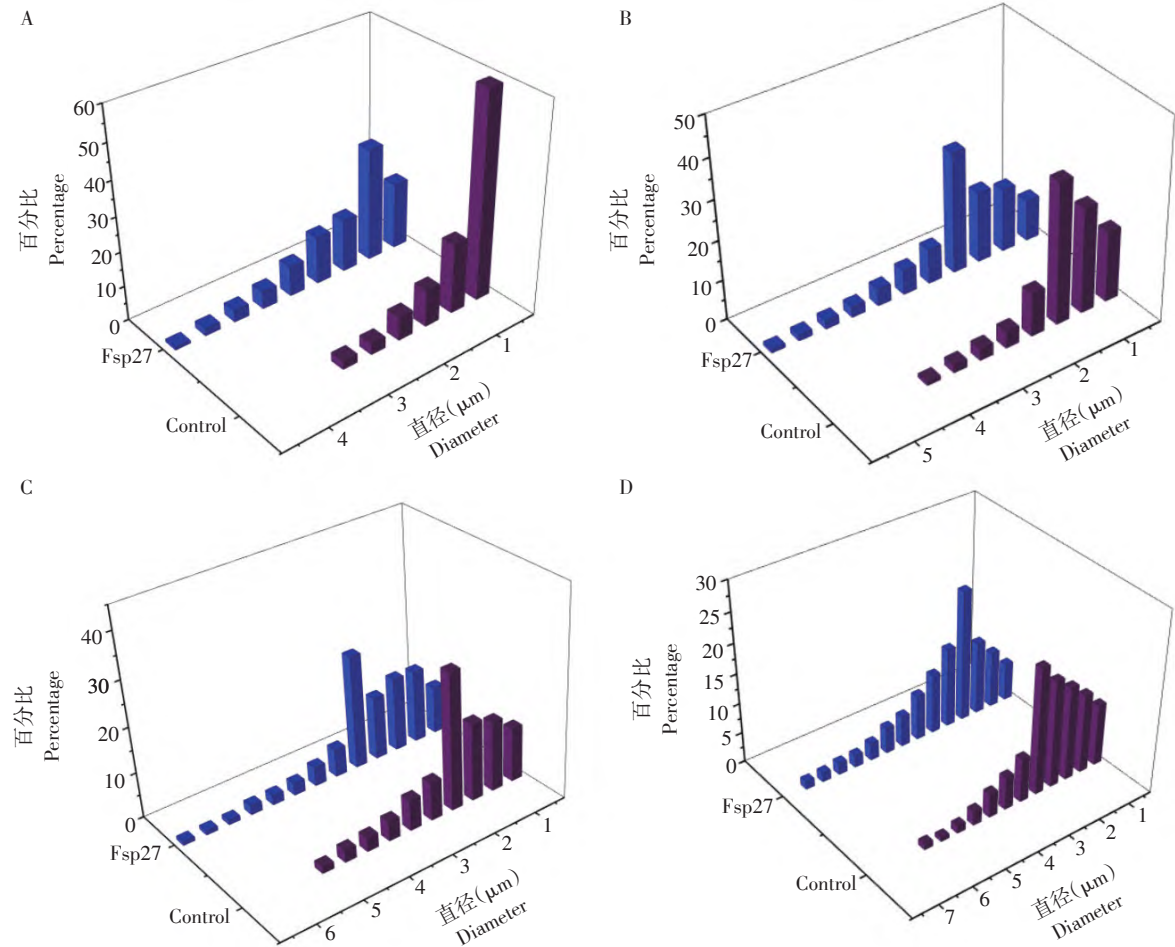
表1 鸡 Fsp27 对前脂肪细胞分化过程中脂滴直径的影响

Table 1 Effects of Fsp27 on the diameter of lipid droplets during the differentiation of preadipocytes

前脂肪细胞分化时间(h) Preadipocyte differentiation time	占比最多脂滴的直径(μm) Diameter of the largest percentage of the lipid droplets		最大脂滴的直径(μm) Maximum lipid droplet diameter	
	对照组 Control group	过表达组 Overexpression group	对照组 Control group	过表达组 Overexpression group
	Control group	Overexpression group	Control group	Overexpression group
24	0~0.5	0.5~1.0	2.70±0.13b	4.36±0.09a
48	1.0~1.5	1.5~2.0	3.64±0.04b	5.54±0.17a
72	1.5~2.0	2.0~2.5	4.86±0.11b	6.47±0.13a
96	2.0~2.5	2.5~3.0	5.93±0.12b	6.78±0.12a

注:数据表示为平均值(Means)±标准误(SE),在同一分化时间,不同字母表示各组数据差异显著($P<0.05$)。

Note: The data are expressed as Means ± standard error (SE). At the same differentiation time, different letters indicate significant differences in data of each group ($P<0.05$).



A-分化24 h; B-分化48 h; C-分化72 h; D-分化96 h; Fsp27-过表达组; Control-对照组

A-Differentiation for 24 h; B-Differentiation for 48 h; C-Differentiation for 72 h; D-Differentiation for 96 h; Fsp27-Overexpression group; Control-Control group

图4 鸡 Fsp27 对前脂肪细胞分化过程中脂滴大小分布的影响

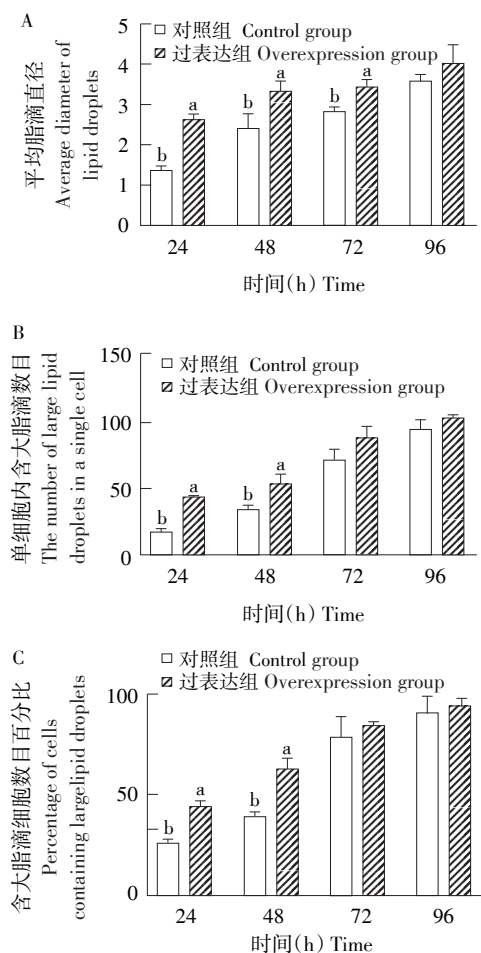
Fig. 4 Effects of Fsp27 on lipid droplet size distribution during preadipocyte differentiation

单细胞内含大脂滴数目结果显示,在前脂肪细胞分化24和48 h时,过表达组中单细胞内含大

脂滴数目显著高于对照组中单细胞内含大脂滴数目($P<0.05$,见图5B),而在前脂肪细胞分化72和

96 h时, 两组之间无显著差异。

含大脂滴细胞数目百分比结果显示, 在前脂肪细胞分化24和48 h时, 过表达组中含大脂滴细胞数目显著高于对照组中含大脂滴细胞数目 ($P<0.05$, 见图5C), 而在细胞分化72和96 h时, 两组之间无显著差异。



A-平均脂滴直径; B-单细胞内含大脂滴数目; C-含大脂滴的细胞数目百分比。在同一分化时间, 柱形图上不同字母表示各组数据差异显著 ($P<0.05$)。

A-Average diameter of lipid droplets; B-The number of large lipid droplets in a single cell; C-Percentage of cells containing large lipid droplets. At the same differentiation time, different letters on the histogram indicated significant differences in data among all groups ($P<0.05$).

图5 鸡Fsp27对前脂肪细胞分化过程中脂滴影响分析

Fig. 5 Analysis of the effect of Fsp27 on lipid droplets during the differentiation of preadipocytes

3 讨论

脂滴作为一种高度动态细胞器, 不仅参与脂质储存、代谢和运输等生理过程, 还与动物体内

多种代谢疾病有关, 具有重要研究价值。

脂滴生长模型通常有三种, 一是通过内质网膜靶向输送获得脂类而生长; 二是局部脂质合成; 三是通过与现有脂滴融合增长^[14-17]。哺乳动物研究显示, 定位于脂滴的Fsp27蛋白可在脂滴接触点上富集, 进而导致脂滴融合生长; 小鼠体外试验表明, Fsp27蛋白可直接与STX18、SEC22B和SNAP23结合, 并通过促进脂滴聚集促进SNARE重组脂肪体的脂质混合^[18]。由此可见, Fsp27蛋白对促进单室大脂滴形成具有重要意义。为检测鸡Fsp27蛋白是否存在类似功能, 本研究分析了鸡Fsp27对前脂肪细胞大脂滴形成的影响。

为准确分析鸡Fsp27对脂滴融合的影响, 本研究从荧光染色图像分析和脂滴大小的统计分析两个角度展开研究。在荧光染色图像分析时, 本研究使用Photoshop软件对细胞图像进行放大处理, 直观展现不同组别脂滴大小差异。在统计分析脂滴大小时, 本研究选择四种衡量脂滴大小的指标: 脂滴大小分布^[19]、平均脂滴直径^[20]、单细胞内含大脂滴(直径大于2.5 μm)数量, 含大脂滴细胞数占总细胞数百分比。这四种指标分别从不同维度对脂滴大小进行评判。脂滴大小及分布可从整体上呈现脂滴分布情况, 能够直观了解不同大小脂滴占比、最大脂滴直径占比等情况; 平均脂滴直径可从整体上分析脂滴大小, 不排除小脂滴数量的影响, 统计分析所有脂滴, 反映生物分子对脂滴大小的调节能力; 单细胞内含大脂滴(直径大于2.5 μm)的数量, 排除小脂滴干扰, 且对单细胞内大脂滴生成能力进行统计分析, 可直观体现出组内组间细胞间大脂滴生成数量水平差异; 含大脂滴细胞数占总细胞数百分比则是除去小脂滴干扰, 对大脂滴进行精细统计分析。结合四种指标综合分析更能客观评判脂滴大小变化情况, 四种指标各有侧重, 前两个指标注重反映脂滴整体情况, 后两个指标则体现大脂滴情况。

显微图像结果表明, 在鸡前脂肪细胞分化各个时间点, 过表达组细胞中最大脂滴直径均大于对照组。四种衡量脂滴大小的指标分析结果显示, 过表达组中脂滴大小、分布等特征均与对照组有不同程度显著差异, Fsp27对大脂滴形成的影响在鸡前脂肪细胞分化24和48 h最为显著。这些结果表明, 鸡Fsp27可诱导前脂肪细胞中大脂滴形

成, 这与哺乳动物上 Fsp27 异位表达增加脂滴大小的研究结果相同^[21-22]。但鸡 Fsp27 是如何影响大脂滴形成, 其作用机制是否与哺乳动物一致, 在此过程中是否有其他蛋白参与, 有待进一步深入研究。

4 结 论

本研究利用基因过表达及荧光染色技术, 通过统计分析分化不同阶段鸡前脂肪细胞内脂滴大小的四种指标, 探究 Fsp27 对鸡前脂肪细胞中大脂滴形成的影响。结果表明, 鸡 Fsp27 对前脂肪细胞中大脂滴的形成具有促进作用。

[参 考 文 献]

- [1] 于进海, 周林康, 吴丽贞, 等. 肥胖的基础研究[J]. 生命科学, 2015, 27(3): 268-279.
- [2] Olzmann J, Carvalho P. Dynamics and functions of lipid droplets[J]. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 2019, 20(3): 137-155.
- [3] Chen F J, Yin Y, Chua B T, et al. CIDE family proteins control lipid homeostasis and the development of metabolic diseases[J]. Traffic, 2020, 21(1): 94-105.
- [4] Welte M A. Expanding roles for lipid droplets[J]. Curr Biol, 2015, 25(11): 470-481.
- [5] Walther T C, Chung J, Farese R V Jr. Lipid Droplet Biogenesis[J]. Annu Rev Cell Dev Biol, 2017, 33: 491-510.
- [6] Toh S Y, Gong J, Du G, et al. Up-regulation of mitochondrial activity and acquirement of brown adipose tissue-like property in the white adipose tissue of fsp27 deficient mice[J]. Plos One, 2008, 3(8): e2890.
- [7] Nishino N, Tamori Y, Tateya S, et al. FSP27 contributes to efficient energy storage in murine white adipocytes by promoting the formation of unilocular lipid droplets[J]. J Clin Invest, 2008, 118(8): 2808-2821.
- [8] Puri V, Konda S, Ranjit S, et al. Fat-specific protein 27, a novel lipid droplet protein that enhances triglyceride storage[J]. J Biol Chem, 2007, 282(47): 34213-34218.
- [9] Aibara D, Matsuo K, Yamano S, et al. Fat-specific protein 27b is regulated by hepatic peroxisome proliferator-activated receptor γ in hepatic steatosis[J]. Endocr J. 2020, 28; 67(1): 37-44.
- [10] 龚婧怡. Cidea 以及 Fsp27 在脂肪代谢中的功能以及分子机制[D]. 北京: 清华大学, 2010.
- [11] Gong J, Sun Z, Wu L, et al. Fsp27 promotes lipid droplet growth by lipid exchange and transfer at lipid droplet contact sites[J]. J Cell Biol, 2011, 195(6): 953-963.
- [12] Sun Z, Gong J, Wu H, et al. Perilipin1 promotes unilocular lipid droplet formation through the activation of Fsp27 in adipocytes[J]. Nat Commun, 2013, 4: 1594.
- [13] Wang W, Zhang T, Wu C, et al. Immortalization of chicken preadipocytes by retroviral transduction of chicken TERT and TR[J]. Plos One, 2017, 12(5): e0177348.
- [14] Yang H, Galea A, Sytnyk V, et al. Controlling the size of lipid droplets: lipid and protein factors[J]. Curr Opin Cell Biol, 2012, 24(4): 509-516.
- [15] Krahmer N, Guo Y, Wilfling F, et al. Phosphatidylcholine synthesis for lipid droplet expansion is mediated by localized activation of CTP: Phosphocholine cytidyltransferase[J]. Cell Metab, 2011, 14(4): 504-515.
- [16] McFie P J, Banman S L, Kary S, et al. Murine diacylglycerol acyltransferase-2 (DGAT2) can catalyze triacylglycerol synthesis and promote lipid droplet formation independent of its localization to the endoplasmic reticulum[J]. J Biol Chem, 2011, 286(32): 28235-28246.
- [17] Stone S J, Levin M C, Zhou P, et al. The endoplasmic reticulum enzyme DGAT2 is found in mitochondria-associated membranes and has a mitochondrial targeting signal that promotes its association with mitochondria[J]. J Biol Chem, 2009, 284(8): 5352-5361.
- [18] Fu Y, Ding B, Liu X, et al. Qa-SNARE syntaxin 18 mediates lipid droplet fusion with SNAP23 and SEC22B[J]. Cell Discov, 2023, 9(1): 115.
- [19] Yang J, Kang F, Wei A, et al. Evaluation of lipid droplet size and fusion in bovine hepatic cells[J]. J Vis Exp, 2023(193): e65234.
- [20] Yu M, Arshad M, Wang W, et al. LRRK2 mediated Rab8a phosphorylation promotes lipid storage[J]. Lipids Health Dis, 2018, 17(1): 34.
- [21] Akter M H, Yamaguchi T, Hirose F, et al. Perilipin, a critical regulator of fat storage and breakdown, is a target gene of estrogen receptor-related receptor alpha[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2008, 368(3): 563-568.
- [22] Keller P, Petrie J T, De Rose P, et al. Fat-specific protein 27 regulates storage of triacylglycerol[J]. J Biol Chem, 2008, 283(21): 14355-14365.