

文章编号: 1000-0615(2019)10-2166-09

DOI: 10.11964/jfc.20190911942

饲料脂肪水平对大口黑鲈CPT1表达的影响

宋铭琪, 钟云飞, 郭佳玲, 陈拥军, 罗莉, 林仕梅*

(西南大学动物科技学院, 淡水鱼类资源与生殖发育教育部重点实验室, 重庆 400716)

摘要: 为研究脂肪水平对大口黑鲈鱼体组织中肉碱棕榈酰转移酶I(CPT1)基因表达的影响及不同生长阶段的表达规律。实验设计6%(低脂)、12%(中脂)和18%(高脂)3种脂肪水平的等氮不等脂饲料, 饲养初始体质量为(23.60±1.26)g的大口黑鲈, 分别在饲养第30、60和90天取肝脏、肠道、肾脏和肌肉等组织样品, 以18S为内参基因, 用CPT1特异性引物进行实时荧光定量实验, 使用 $2^{-\Delta\Delta C_T}$ 法得到CPT1基因的相对表达数据。结果显示, CPT1基因在肝脏中表达量最高, 在肠道和肾脏中次之, 在鳃丝、心脏、肌肉、胃、脑以及脾脏中表达量较低; 在不同脂肪水平处理下, CPT1表达量随脂肪水平的增加而增加; 在不同生长阶段中, CPT1表达量随饲养时间的延长而增加。研究表明, 饲料脂肪水平及饲养时间会诱导大口黑鲈组织CPT1基因的表达, 表明CPT1可能参与机体脂肪的分解代谢。

关键词: 大口黑鲈; 脂肪水平; CPT1; 基因表达; qPCR

中图分类号: S 963

文献标志码: A

肉碱棕榈酰转移酶I(carnitine palmitoyl transferase I, CPT1), 主要分布于微粒体和线粒体外膜^[1], 是脂肪酸 β -氧化过程中的限速酶^[2], 对脂肪的分解代谢和机体能量代谢具有重要的调控作用^[3-4]。已有研究表明, CPT1广泛存在于人、哺乳动物和鱼体组织中^[3, 5], 但CPT1的活性因动物种类或组织的不同而有差异^[6-8]。饲料营养素也是影响鱼类CPT1表达水平的重要因素, 如饲料脂肪水平和脂肪源都会影响鱼肝脏中CPT1基因的表达^[4, 9-10]。此外, 鱼类的发育阶段也会影响组织中CPT1基因的表达水平^[11-12]。众所周知, 肉食性鱼类对脂肪的需求较高, 且高脂饲料对蛋白质具有一定的节约作用^[13]。而饲料脂肪水平过高会引起鱼体脂肪的异常或过度沉积^[14], 致使机体组织器官受损^[15-16], 从而影响鱼类生长发育。大口黑鲈(*Micropterus salmoides*)作为我国重要的经济鱼类, 在养殖生产中极易出现肝脏疾病, 而且其饲料中脂肪含量也较高, 它们之间

的关系尚不清楚; 关于CPT1调控大口黑鲈脂肪代谢的研究还未见报道。为此, 本实验以大口黑鲈为对象, 研究脂肪水平对大口黑鲈组织中CPT1基因表达的影响, 探讨其在鱼类组织脂肪沉积中的作用。

1 材料与方法

1.1 实验饲料

以进口鱼粉、豆粕、小麦蛋白粉和大豆分离蛋白为主要蛋白源, 小麦淀粉为主要糖源, 配制成基础饲料。在此基础上, 以鱼油和豆油(2:5)为脂肪来源, 配制成6%(低脂)、12%(中脂)和18%(高脂)3个脂肪水平的等氮不等能的实验饲料, 饲料配方及营养水平见表1。饲料原料粉碎过80目筛, 经过逐级稀释混匀后制成3 mm的颗粒饲料, 经过自然风干后, 于4℃冰箱中冷藏备用。

收稿日期: 2019-09-05 修回日期: 2019-09-22

资助项目: 国家自然科学基金(31672659)

通信作者: 林仕梅, E-mail: linsm198@163.com

表 1 实验饲料配方及营养水平(风干基础)

Tab. 1 Formulation and proximate composition of the experimental diets (air-dry basis) %

项目 items	脂肪水平/% lipid level		
	6	12	18
原料 ingredients			
进口蒸汽鱼粉 (CP 67%) imported steam fish meal	35.00	35.00	35.00
豆粕 soybean meal	12.00	12.00	12.00
小麦蛋白粉 (CP 75%) wheat protein powder	10.00	10.00	10.00
大豆分离蛋白(无糖) (CP90%) soy protein isolate	8.00	8.00	8.00
明胶 gelatin	2.00	2.00	2.00
面粉 flour	2.00	2.00	2.00
鱼油 fish oil	0.85	2.55	4.25
豆油 soybean oil	2.15	6.45	10.75
氯化胆碱 choline chloride	0.30	0.30	0.30
维生素C vitamin C	0.20	0.20	0.20
磷酸二氢钙 Ca(H ₂ PO ₄) ₂ H ₂ O	1.00	1.00	1.00
复合预混料 compound premix	3.00	3.00	3.00
微晶纤维素 microcrystalline cellulose	23.50	17.50	11.50
合计 total	100	100	100
营养成分 nutrient levels			
粗蛋白 crude protein	45.64	45.63	45.63
粗脂肪 crude lipid	6.46	12.34	18.22
粗灰分 crude ash	7.14	7.17	7.20
碳水化合物 carbohydrate	5.41	5.41	5.41
总能 (kJ/100 g) gross energy	1 428.98	1 661.20	1 893.69

注: 复合预混料采用肉食性鱼用复合预混料, 包括维生素预混料和矿物质预混料。维生素预混料为每千克饲料提供: V_A 18 mg, V_D 3.5 mg, V_E 150 mg, V_C(35%)500 mg, V_B 16 mg, V_{B6} 20 mg, V_{B12} 18 mg, 核黄素40 mg, 肌醇320 mg, 泛酸钙60 mg, 烟酰胺80 mg, 叶酸5 mg, 生物素2 mg, 乙氧基喹啉100 mg; 矿物质预混料为每千克饲料提供: Na 30 mg, K 50 mg, Mg 100 mg, Cu 4 mg, Fe 25 mg, Zn 35 mg, Mn 12 mg, I 1.6 mg, Se 0.2 mg, Co 0.8 mg

Notes: the composite premix is for carnivorous fish, including vitamin premixes and mineral premixes. Vitamin premix provided the following per kg of the diet: V_A 18 mg, V_D 3.5 mg, V_E 150 mg, V_C(35%)500 mg, V_B 16 mg, V_{B6} 20 mg, V_{B12} 18 mg, riboflavin 40 mg, inositol 320 mg, calcium-D-pantothenate 60 mg, niacinamide 80 mg, folic acid 5 mg, biotin 2 mg, ethoxyquin 100 mg; mineral premix provided the following per kg of the diet: Na 30 mg, K 50 mg, Mg 100 mg, Cu 4 mg, Fe 25 mg, Zn 35 mg, Mn 12 mg, I 1.6 mg, Se 0.2 mg, Co 0.8 mg

1.2 实验对象

实验用大口黑鲈购自重庆长寿区鱼种场。实验正式开始前, 将大口黑鲈集中暂养在大缸中, 投喂商品饲料驯化1周, 使其适应实验环境。将其禁食24 h后用麻醉剂(0.01% MS-222, Sigma, USA)麻醉并称量, 随机挑选出健康、规格均一的大口黑鲈[初始体质量(23.60±1.26 g)], 分为3个处理组, 每个处理下设3个重复(有效水体积约180 L), 每个重复25尾鱼, 在室内淡水循环养殖系统中饲喂实验饲料13周。

1.3 饲养管理

每日8:30、12:30、18:00各投食1次, 日投饲量为鱼体质量的3%~5%。每隔2周调整投饵率。养殖水源为曝气自来水, 实验期间, 水温为25~29 °C, pH 6.7~7.2, 溶解氧>7.0 mg/L, 氨氮<0.1 mg/L, 亚硝酸盐氮<0.01 mg/L, 硫化物浓度<0.05 mg/L。光周期(L:D)为12/12。

1.4 样品制备与分析

在饲养第30、60和90天后称重和取样。每个重复随机取3尾鱼, 在冰上迅速解剖分离出肝脏、肠道、肾脏、脾脏、脑、肌肉、心脏、鳃丝和胃9个组织, 放入1.5 mL无菌无酶的离心管中, 加入RNA保护剂 Sample Protector for RNA/DNA(TaKaRa, 型号9750)后于液氮中速冻, -80 °C冷冻保存。采用传统裂解法, 用RNAisoPlus (TaKaRa, 型号9109)提取各组织的mRNA, 然后用1.0%凝胶 Agarose Regular (TaKaRa, 型号5260)进行电泳检测, 并用酶标仪 Nano Drop 2000(Thermo Scientific)测定mRNA的浓度。使用逆转录试剂盒NovoScrip Plus All-in-one 1st Strand cDNA Synthesis Supersis Super Mix(gDNA Purge)(novoprotein, 型号E047-01B)将mRNA合成成为cDNA链第一链, 将获得的cDNA于-20 °C冰箱保存备用。采用实时荧光定量PCR技术, 以18S作为内参基因(GenBank登录号为XR_003942051), 根据本课题组基因克隆得到的CPT1核心序列设计特异性引物, 使用荧光染料酶试剂盒NovoStart SYBRq PCR Super Mix Plus(novoprotein, 型号E096-01B), 用荧光定量PCR仪(Bio-Rad CFX96, USA)进行qPCR, 每个样品设置3个重复。通过2^{-ΔΔC_T}法^[17]计算得到各个组织中CPT1基因的相对表达数据。qPCR引物序列见表2, 引物交由北京擎科生物科技有限公司重庆分公司进行合成。肝

脏中肉碱棕榈酰转移酶(*CPT1*)活性由ELISA试剂盒测定(型号EIA-17041, 上海优选生物科技有限公司)。

表 2 qPCR引物序列

Tab. 2 Primers used for qPCR

引物名称	primer name	引物序列	primer sequence
18S-F		GGACACGGAAAGGATTGACAG	
18S-R		CGGAGTCTCGTTCGTTATCGG	
<i>CPT1</i> -F		AGTATGTGTCTCTGGAGGTGGAT	
<i>CPT1</i> -R		TGGAGATGTGGAAGTTGATGTGGTT	

1.5 数据分析

采用SPSS 22.0软件对所得数据进行方差检验和单因素方差分析(One-Way ANOVA), 若差异达到显著水平, 则进行Tukey氏多重比较, 显著性水平为 $P < 0.05$ 。实验数据均以平均值 \pm 标准误差(mean \pm SE)表示。用Graphpad 7.0软件将荧光定量数据进行作图。

2 结果

2.1 饲料脂肪水平对大口黑鲈肝脏*CPT1*酶活性的影响

饲料脂肪水平对大口黑鲈肝脏*CPT1*酶活性的影响如表3所示。不同脂肪水平饲养大口黑鲈30和60 d, 肝脏中*CPT1*酶活性均为中脂(ML)组最高($P < 0.05$), 且30 d高脂(HL)组*CPT1*酶活性也显著高于低脂(LL)组($P < 0.05$)。而30 d大口黑鲈肝脏中*CPT1*酶活性与60 d相比无显著性差异($P > 0.05$)。

表 3 饲料脂肪水平对大口黑鲈肝脏*CPT1*酶活性的影响

Tab. 3 Effect of dietary lipid levels on *CPT1* enzyme

饲养天数/d feeding days	脂肪水平/% lipid levels			U/L
	activity in liver of <i>M. salmoides</i>			
	LL (6)	ML (12)	HL (18)	
30	114.78 \pm 3.66 ^a	255.08 \pm 16.28 ^c	173.31 \pm 7.66 ^b	
60	155.25 \pm 11.17 ^a	247.51 \pm 16.85 ^b	153.30 \pm 14.98 ^a	

注: 同行中上标不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)

Notes: in the same row, values with different small letter superscripts mean significant difference ($P < 0.05$). LL. low lipid, ML. medium lipid, HL. high lipid

2.2 大口黑鲈*CPT1*基因表达的组织差异性

大口黑鲈肝脏中*CPT1*基因的表达量最高($P <$

0.05), 其次是肠道和肾脏, 而肌肉、心脏、鳃丝、胃、脑和脾脏中*CPT1*的表达差异不显著($P > 0.05$) (图1)。

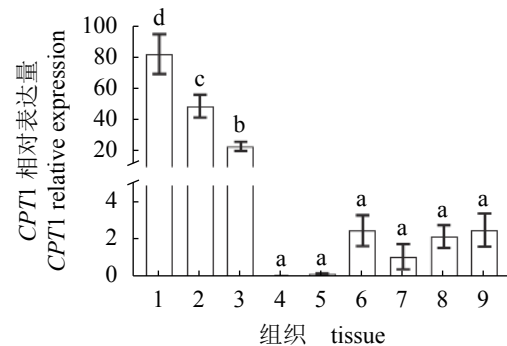


图 1 *CPT1*基因在大口黑鲈组织中的表达差异

1. 肝脏, 2. 肠道, 3. 肾脏, 4. 脾脏, 5. 脑, 6. 心, 7. 胃, 8. 鳃丝, 9. 肌肉。柱状图标注不同字母表示差异显著($P < 0.05$)。下同

Fig. 1 Differential expression of *CPT1* gene in various tissues of *M. salmoides*

1. liver, 2. intestine, 3. kidney, 4. spleen, 5. brain, 6. heart, 7. stomach, 8. gill filament, 9. muscle. Column with different letters mean significant differences ($P < 0.05$). The same below

2.3 不同脂肪水平大口黑鲈组织中*CPT1*表达的差异

用不同脂肪水平的饲料饲喂大口黑鲈30 d, ML组肠道、肾脏和肌肉组织中*CPT1*的表达量均显著高于LL组和HL组($P < 0.05$); 饲喂60 d, ML组肝脏、肠道和肾脏组织中*CPT1*的表达量显著高于其他组, 而肌肉中*CPT1*在HL组中的表达显著高于其他组($P < 0.05$); 饲喂90 d, HL组4个组织中*CPT1*的表达量均显著高于其他组($P < 0.05$) (图2)。

2.4 不同生长阶段大口黑鲈组织中*CPT1*表达的差异

不同生长阶段对大口黑鲈组织中*CPT1*表达量的影响如图3所示。无论是LL组、ML组还是HL组, 大口黑鲈肝脏、肠道和肌肉组织中*CPT1*的表达量均在饲喂60 d后达到最高($P < 0.05$); 而肾脏组织中*CPT1*的表达量在饲喂90 d后达到最高($P < 0.05$)。

3 讨论

3.1 *CPT1*基因在大口黑鲈组织中的表达差异性

大量研究表明, 动物种类^[6, 18]、日粮类型^[19-20]、营养素^[9, 21]和疾病^[22]等均可影响*CPT1*基因的表达

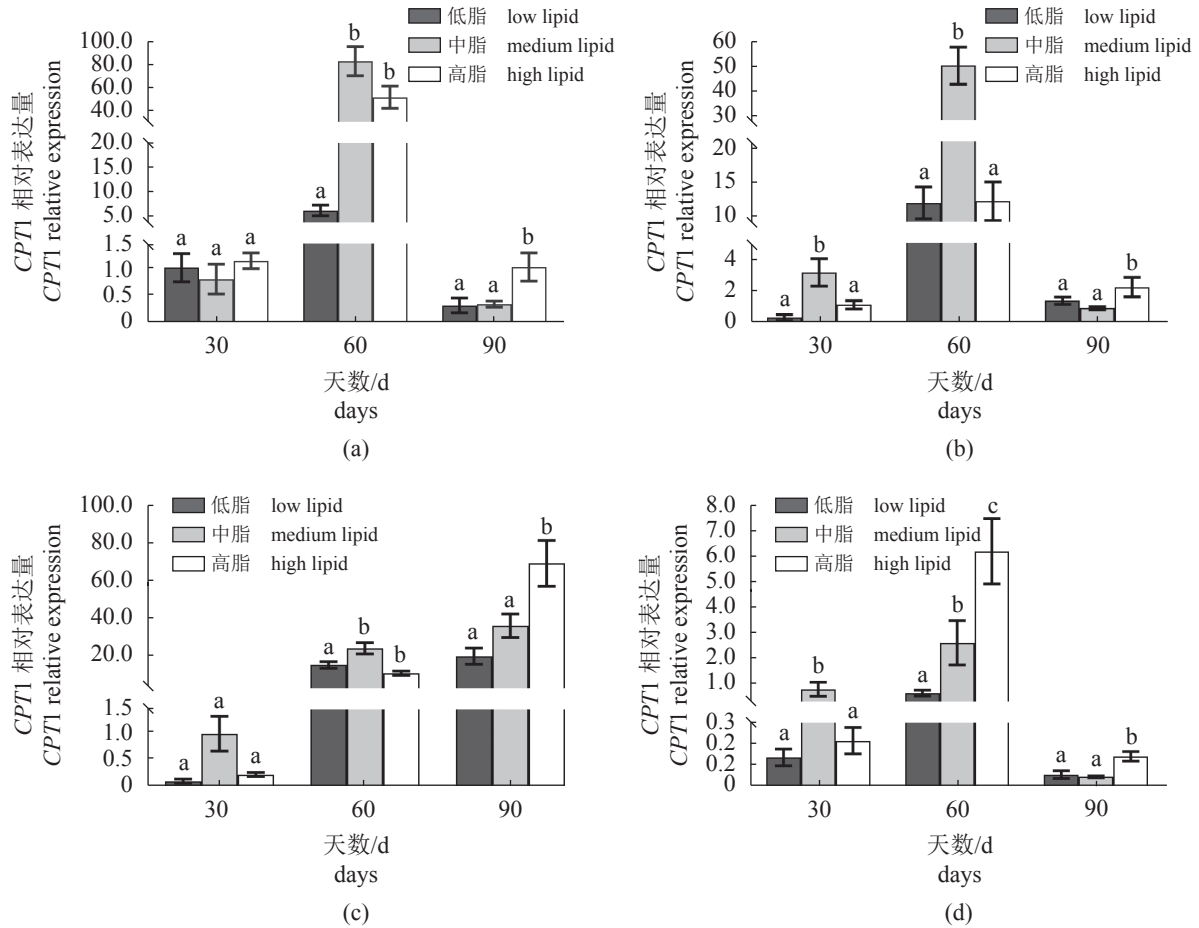


图 2 饲料脂肪水平对大口黑鲈组织中CPT1表达量的影响

(a)肝脏, (b)肠道, (c)肾脏, (d)肌肉, 下同。柱状图标注不同字母表示同一时间不同脂肪水平的CPT1基因表达差异显著(P<0.05)

Fig. 2 Effect of dietary lipid levels on the expression of CPT1 in tissues of *M. salmoides*

(a) liver, (b) intestine, (c) kidney, (d) muscle, the same below. Columns with different letters mean significant differences in CPT1 gene expression of different lipid levels at the same time(P<0.05)

达。同样, CPT1基因的表达具有组织和物种的特异性^[23-24], 这代表了组织或物种调控脂肪酸氧化的能力有一定的差异。本研究结果显示, CPT1在大口黑鲈9个组织中均有表达, 这与在羊^[6]和猪^[25]中的研究结果一致。说明CPT1在动物体内是一个广泛表达的基因, 也相对保守。本实验还发现, CPT1在肝脏、肠道和肾脏中表达量最高, 而在肌肉和心脏中表达量较低, 且表达量不受脂肪水平和生长周期的干扰。在对人类^[26]、绵羊^[6]和花鲈(*Lateolabrax japonicus*)^[27]的研究中也观察到类似的结果, 而SD大鼠的研究结果显示CPT1活性在肝脏中最强, 肾脏中最低^[7]。这表明CPT1基因在不同物种之间的调控机制可能存在很大的差异, 同样的结果在山羊和绵羊的研究中得以证实^[6, 28]。这种组织和物种差异性可能与

氧化脂肪酸的能力及脂肪沉积有关, 肝脏是脂肪酸β-氧化的主要场所^[6], 脂肪在鱼体中的储存位置主要为肝脏、肌肉和肠系膜等部位^[29], 这也许是肝脏、肠道中CPT1基因表达量较高的原因。肌肉及其他组织β-氧化的脂肪酸主要来自血液循环中游离的脂肪酸和酯化为甘油三酯的脂肪酸^[30-31], 因此肌肉中CPT1的表达量较肝脏、肠道少, 与其他组织之间并无显著差异。肾脏是机体重要的免疫器官, 在维持机体内环境稳定和新陈代谢中发挥着至关重要的作用^[32]。本实验用高脂饲料饲喂大口黑鲈90 d, 肾脏中CPT1表达量是肝脏和肠道的80倍, 这可能暗示了高脂饲料的持续投喂引起大口黑鲈代谢系统的紊乱, 并诱导机体的免疫反应, 使肾脏处于异常活跃的状态。

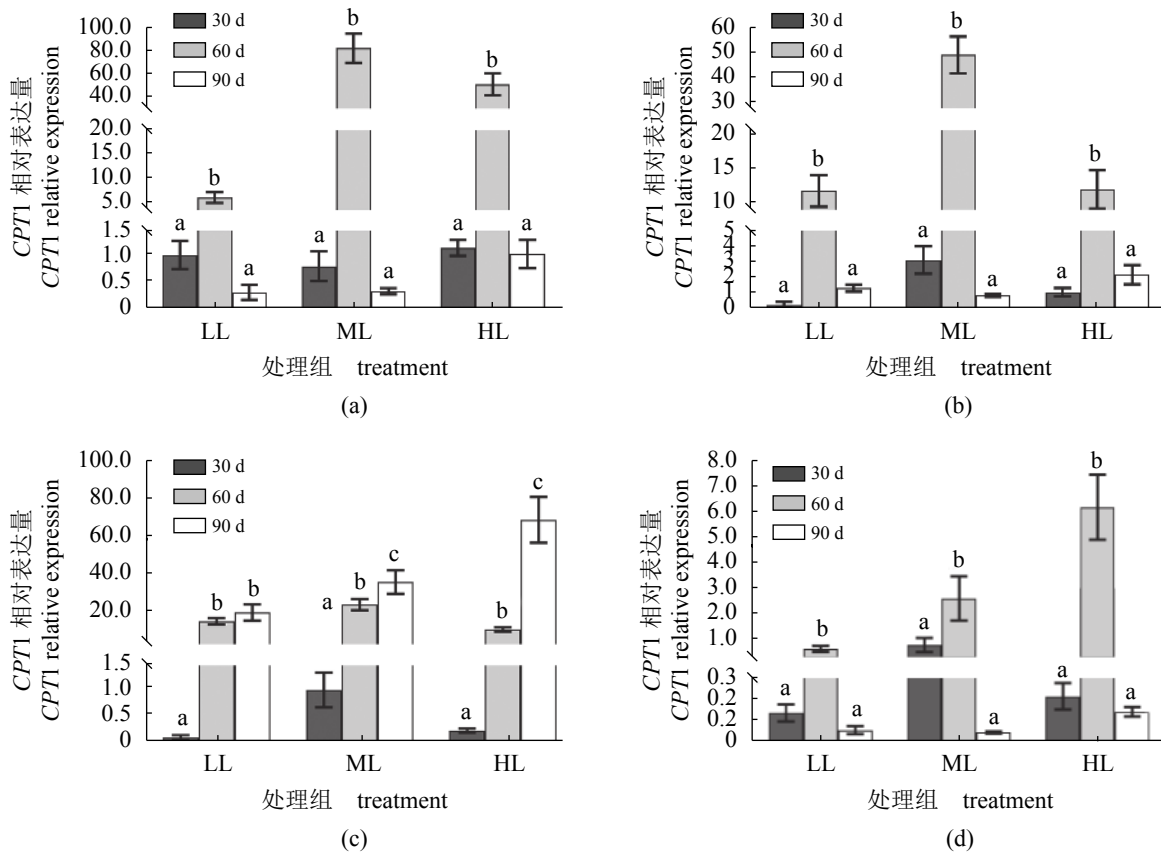


图3 不同生长阶段对大口黑鲈组织中CPT1表达量的影响

不同字母表示同一处理组不同取样时间的CPT1基因表达差异显著($P<0.05$)

Fig. 3 Effects of different growth stages on the expression of CPT1 in tissues of *M. salmoides*

Columns with different letters mean significant differences in CPT1 gene expression at different sampling time for the same treatment group ($P<0.05$)

3.2 不同脂肪水平大口黑鲈CPT1表达的差异

本研究发现,组织中CPT1基因的表达量随饲料脂肪水平的升高而增加。在小鼠^[26,33]和建鲤(*Cyprinus carpio* var. *jian*)^[34]的研究中也有类似的发现,这可能是由于CPT1基因的表达水平与体脂肪含量有关。研究表明,CPT1基因与机体脂肪的沉积密切相关^[34-35],其表达水平升高有助于增加脂肪酸的分解^[6,36],减少脂肪沉积,降低体脂含量。饲喂30 d,除肝脏外,ML组大口黑鲈肠道、肾脏和肌肉中CPT1的表达量显著高于其他组。而饲喂60 d,除肌肉外,ML组大口黑鲈肝脏、肠道和肾脏中CPT1的表达量也显著高于其他组,这与大口黑鲈肝脏中CPT1酶活性的结果一致,同样与在大黄鱼(*Larimichthys crocea*)^[37]和团头鲂(*Megalobrama amblycephala*)^[38]中观察的结果相似。这可能是由于高脂饲料中高水平的n-3 LC-PUFA显著改变肝脏线粒体膜脂肪酸组成和CPT1的动物学活性,导致了组织中CPT1表达量

的下降^[37-38],在团头鲂、大黄鱼和小鼠^[39]中均有相似的发现。此外,也可能与HL组中大口黑鲈通过减少摄食量来调控体内脂肪沉积有关,在吉富罗非鱼(GIFT *Oreochromis niloticus*)^[40]中也观察到类似的结果。然而,在饲喂90 d,HL组大口黑鲈肝脏、肠道、肾脏和肌肉中CPT1的表达量均显著高于其他处理组,这可能与机体脂肪沉积引起的正反馈调节有关,在高脂饲料的持续摄入后引发了一系列代谢途径,诱导CPT1基因的过量表达,为了阻止脂肪过度沉积而导致的细胞脂毒性^[41]。以上结果表明,脂肪水平对大口黑鲈不同组织中CPT1表达的影响是有差异的,关于脂肪水平调控鱼类组织中CPT1表达的机制需要深入研究。

3.3 不同生长阶段大口黑鲈CPT1表达的差异

不同生长阶段对CPT1基因表达量影响的研究鲜有报道。本实验中,随着饲喂时间的延长,大口黑鲈的体质量增加,组织中CPT1基因

的表达量也随之增加, 说明脂肪持续的摄入会诱导CPT1基因的表达, 加快组织中脂肪酸的分解代谢。饲喂60 d, 大口黑鲈肝脏、肠道、肾脏和肌肉中CPT1基因的表达量均显著高于30 d, 这表明摄入过多的脂肪会导致CPT1基因的调控水平增强。而饲喂90 d, 大口黑鲈肝脏、肠道和肌肉中CPT1的表达量显著低于60 d, 这可能暗示了此时组织已经受到损伤, 影响了脂肪代谢。只有肾脏在饲喂90 d时, CPT1表达量显著高于60 d, 且其表达量是肝脏和肠道的80倍, 这可能与肾脏在免疫系统所起的作用有关, 具体机制有待进一步研究。

综上所述, 饲料脂肪水平和鱼体生长阶段均会影响大口黑鲈组织中CPT1基因的表达。大口黑鲈肝脏、肠道和肾脏中CPT1基因的表达量较高, 且其表达量随饲料脂肪水平的升高、饲喂时间的延长而增加。

参考文献:

- [1] McGarry J D, Woeltje K F, Kuwajima M, *et al.* Regulation of ketogenesis and the renaissance of carnitine palmitoyl transferase[J]. *Diabetes/Metabolism Reviews*, 1989, 5(3): 271-284.
- [2] 陈灰, 张良, 李心慰, 等. 脂联素对犊牛肝细胞脂氧化关键酶表达的影响[J]. *中国兽医学报*, 2012, 32(10): 1551-1555.
- Chen H, Zhang L, Li X W, *et al.* Effects of adiponectin on the expression of key enzyme genes involved in fatty acid oxidation in bovine hepatocytes cultured *in vitro*[J]. *Chinese Journal of Veterinary Science*, 2012, 32(10): 1551-1555(in Chinese).
- [3] Gutiérrez S, Damon M, Panserat S, *et al.* Cloning and tissue distribution of a carnitine palmitoyl transferase I gene in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 2003, 135(1): 139-151.
- [4] Lu K L, Xu W N, Li X F, *et al.* Hepatic triacylglycerol secretion, lipid transport and tissue lipid uptake in blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*) fed high-fat diet[J]. *Aquaculture*, 2013, 408-409: 160-168.
- [5] Lopes-Marques M, Delgado ILS, Ruivo R, *et al.* The origin and diversity of *Cpt1* genes in vertebrate species[J]. *PLoS One*, 2015, 10(9): e0138447.
- [6] 于宝莉, 高爱琴, 李金泉, 等. 肉碱棕榈酰转移酶基因在绵羊和山羊不同肌肉组织中的表达分析[J]. *中国畜牧兽医*, 2012, 39(10): 1-6.
- Yu B L, Gao A Q, Li J Q, *et al.* Expression analysis of CPT gene in different tissues from sheep and goat[J]. *China Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2012, 39(10): 1-6(in Chinese).
- [7] Doh K O, Kim Y W, Park S Y, *et al.* Interrelation between long-chain fatty acid oxidation rate and carnitine palmitoyl transferase I activity with different isoforms in rat tissues[J]. *Life Sciences*, 2005, 77(4): 435-443.
- [8] Morash A J, Kajimura M, McClelland G B. Intertissue regulation of carnitine palmitoyl transferase I (CPTI): mitochondrial membrane properties and gene expression in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 2008, 1778(6): 1382-1389.
- [9] Morash A J, Bureau D P, McClelland G B. Effects of dietary fatty acid composition on the regulation of carnitine palmitoyl transferase (CPT) I in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 2009, 152(1): 85-93.
- [10] Tan X Y, Luo Z, Zeng Q, *et al.* *trans*-10, *cis*-12 conjugated linoleic acid improved growth performance, reduced lipid deposition and influenced CPT I kinetic constants of juvenile *Synechogobius hasta*[J]. *Lipids*, 2013, 48(5): 505-512.
- [11] Liu C X, Luo Z, Hu W, *et al.* Kinetics of carnitine palmitoyl transferase I (CPT I) in Chinese sucker (*Myxocyprinus asiaticus*) change with its development[J]. *Lipids*, 2014, 49(2): 173-181.
- [12] Boukouvala E, Leaver M J, Favre-Krey L, *et al.* Molecular characterization of a gilthead sea bream (*Sparus aurata*) muscle tissue cDNA for carnitine palmitoyl transferase 1B(CPT1B)[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 2010, 157(2): 189-197.
- [13] Dias J, Alvarez M J, Diez A, *et al.* Regulation of hepatic lipogenesis by dietary protein/energy in juvenile European seabass (*Dicentrarchus labrax*)[J]. *Aquaculture*, 1998, 161(1-4): 169-186.
- [14] Martins D A, Valente L M P, Lall S P. Effects of dietary

- lipid level on growth and lipid utilization by juvenile Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*, L.)[J]. *Aquaculture*, 2007, 263(1-4): 150-158.
- [15] 李坚明, 甘辉, 冯广朋, 等. 饲料脂肪含量与奥尼罗非鱼幼鱼肝脏形态结构特征的相关性[J]. *南方水产*, 2008, 4(5): 37-43.
- Li J M, Gan H, Feng G P, *et al.* Correlation between lipid levels of feed and liver morphology characters of juvenile tilapia (*Oreochromis niloticus*×*O. aureus*)[J]. *South China Fisheries Science*, 2008, 4(5): 37-43(in Chinese).
- [16] 池作授, 耿旭, 郭云学, 等. 奥尼罗非鱼仔稚鱼饲料中适宜脂肪水平的研究[J]. *中国饲料*, 2010(20): 32-37.
- Chi Z Z, Geng X, Guo Y X, *et al.* Study on the optimum dietary lipid level in tilapia larvae[J]. *China Feed*, 2010(20): 32-37(in Chinese).
- [17] Livak K J, Schmittgen T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta C_t}$ method[J]. *Methods*, 2001, 25(4): 402-408.
- [18] 任阳, 朱琳娜, 单体中, 等. 肉脂型和瘦肉型猪Sirt1等基因表达的品种差异及insulin对其表达的影响研究[C]//第六次全国饲料营养学术研讨会论文集. 杨凌: 中国畜牧兽医学会动物营养学分会, 2010.
- Ren Y, Zhu L N, Shan T Z, *et al.* Variety of gene expression of Sirt1 and other genes in meat fat and lean meat pigs and effects of insulin on its expression[C]//The Sixth National Feed Nutrition Academic Discussion Conference Proceedings. Yangling: National Society of Animal Nutrition Chinese Association of Animal Science and Veterinary Medicine, 2010(in Chinese).
- [19] 潘洪彬, 王静, 黄英, 等. 饲料能量水平对乌金猪脂肪组织脂类分解代谢相关基因表达的影响[J]. *动物营养学报*, 2011, 23(11): 1946-1952.
- Pan H B, Wang J, Huang Y, *et al.* Dietary energy level affects lipid catabolism-related gene expression in adipose tissue of Wujin pigs[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2011, 23(11): 1946-1952(in Chinese).
- [20] 黄英, 李永能, 杨明华, 等. 两种日粮对乌金猪脂肪组织脂类分解代谢相关基因表达的影响[J]. *家畜生态学*, 2013, 34(5): 16-20.
- Huang Y, Li Y N, Yang M H, *et al.* Effect of two dietaries on the expression levels of lipolysis related genes in adipose tissue of Wujin pig[J]. *Acta Ecologicae Animalis Domastici*, 2013, 34(5): 16-20(in Chinese).
- [21] 蒋左玉, 姚俊杰, 安苗, 等. 葡萄糖、维生素C浸泡对普安银鲫胚胎发育中乙酰辅酶A羧化酶、脂肪酰合成酶及肉毒碱棕榈酰转移酶I活性的影响[J]. *动物营养学报*, 2014, 26(11): 3510-3516.
- Jiang Z Y, Yao J J, An M, *et al.* Effects of glucose and vitamin C inhabitation on activities of acetyl-CoA carboxylase, fatty acid synthase and carnitine palmitoyl transferases I during embryo development of *Carassius auratus gibelio*[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2014, 26(11): 3510-3516(in Chinese).
- [22] Cheng Y, Dharancy S, Malapel M, *et al.* Hepatitis C virus infection down-regulates the expression of peroxisome proliferator-activated receptor α and carnitine palmitoyl acyl-CoA transferase 1A[J]. *World Journal of Gastroenterology*, 2005, 11(48): 7591-7596.
- [23] 汪以真, 韩菲菲. 猪源抗菌肽抗菌、免疫、表达特性及其营养调控的研究进展[C]//2010中国畜牧兽医学会动物营养学分会第六次全国饲料营养学术研讨会论文集. 杨凌: 中国畜牧兽医学会动物营养学分会, 2010: 291-301.
- Wang Y Z, Han F F. Research progress on antibacterial, immune, expression characteristics and nutritional regulation of porcine antimicrobial peptides[C]//Progress in Feed Nutrition Research. Yangling: National Society of Animal Nutrition Chinese Association of Animal Science and Veterinary Medicine, 2010: 291-301(in Chinese).
- [24] Morash A J, Le Moine C M R, McClelland G B. Genome duplication events have led to a diversification in the CPT1 gene family in fish[J]. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 2010, 299(2): R579-R589.
- [25] 张艳芳. CPT1基因对猪脂肪沉积的影响及其调控机制的研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2010.
- Zhang Y F. Effect of CPT1 gene on porcine fat deposition and its molecular mechanism[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2010(in Chinese).
- [26] McGarry J D, Brown N F. The mitochondrial carnitine palmitoyl transferase system—from concept to molecular analysis[J]. *European Journal of Biochemistry*, 1997, 244(1): 1-14.
- [27] 郑伟贤, 钱云霞, 童丽娟. 鲈鱼CPT1基因cDNA克隆及表达分析[J]. *生物学杂志*, 2012, 29(3): 1-5.
- Zheng W X, Qian Y X, Tong L J. Molecular cloning and

- tissue distribution of carnitine palmitoyl transferases I gene from *Lateolabrax japonicus*[J]. *Journal of Biology*, 2012, 29(3): 1-5(in Chinese).
- [28] 杨家大. 贵州地方山羊CPT-1A基因在不同品种和组织中的表达差异[J]. *浙江农业学报*, 2015, 27(6): 921-926.
Yang J D. Analysis on expression differences of CPT-1A gene in different tissues of Guizhou native goat breeds[J]. *Acta Agriculturae Zhejiangensis*, 2015, 27(6): 921-926(in Chinese).
- [29] Gaylord T G, Gatlin III D M. Dietary lipid level but not L-carnitine affects growth performance of hybrid striped bass (*Morone chrysops*♀×*M. saxatilis*♂)[J]. *Aquaculture*, 2000, 190(3-4): 237-246.
- [30] 杨家大, 陈祥, 龙威海, 等. 放牧山羊CPT1B基因mRNA的组织分布研究[J]. *上海农业学报*, 2015, 31(3): 53-57.
Yang J D, Chen X, Long W H, *et al.* Study on the tissue distribution of CPT1B mRNA in grazing goats[J]. *Acta Agriculturae Shanghai*, 2015, 31(3): 53-57(in Chinese).
- [31] 李晓云, 韩彩霞, 路义鑫, 等. 感染旋毛虫小鼠的心肌CPT1 mRNA表达量及血脂变化[J]. *中国兽医科学*, 2011, 41(2): 205-209.
Li X Y, Han C X, Lu Y X, *et al.* Observation on changes of CPT1 mRNA expression and blood lipid in myocardium of mice infected with *Trichinella spiralis*[J]. *Chinese Veterinary Science*, 2011, 41(2): 205-209(in Chinese).
- [32] 杨斌. 肾脏与免疫[J]. *生物学通报*, 1996, 31(1): 15-17.
Yang B. Kidney and immunity[J]. *Bulletin of Biology*, 1996, 31(1): 15-17(in Chinese).
- [33] Mc Garry J D. Appetite control: Does leptin lighten the problem of obesity?[J]. *Current Biology*, 1995, 5(12): 1342-1344.
- [34] 董婧, 李林, 于业辉, 等. 外源肉碱对鲤鱼背肌脂肪酸组成及其CPT1基因表达的影响[J]. *西北农林科技大学学报(自然科学版)*, 2014, 42(1): 29-36.
Dong J, Li L, Yu Y H, *et al.* Effects of exogenous carnitine on fatty acid composition and CPT1 gene expression in muscle of common carp (*Cyprinus carpio*)[J]. *Journal of Northwest A&F University (Natural Science Edition)*, 2014, 42(1): 29-36(in Chinese).
- [35] Morash A J, McClelland G B. Regulation of carnitine palmitoyl transferase (CPT) I during fasting in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) promotes increased mitochondrial fatty acid oxidation[J]. *Physiological and Biochemical Zoology*, 2011, 84(6): 625-633.
- [36] 徐闯, 张日和, 夏成, 等. β-羟丁酸对体外培养牛肝细胞肉碱脂酰基转移酶-I转录和翻译水平的影响[J]. *中国生物制品学杂志*, 2010, 23(7): 714-716.
Xu C, Zhang R H, Xia C, *et al.* Effect of β-hydroxybutyrate on transcription and translation levels of carnitine palmitoyl transferase- I in bovine hepatocytes cultured *in vitro*[J]. *Chinese Journal of Biologicals*, 2010, 23(7): 714-716(in Chinese).
- [37] 严晶. 饲料脂肪水平和脂肪酸种类对大黄鱼脂肪沉积的影响[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2015.
Yan J. Effects of feed fat levels and fatty acid types on fat deposition in large yellow croaker[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2015(in Chinese).
- [38] Kang L L, Wei N X, Li N W, *et al.* Hepatic β-oxidation and regulation of carnitine palmitoyl transferase (CPT) I in blunt snout bream *Megalobrama amblycephala* fed a high fat diet[J]. *PLoS ONE*, 2014, 9(3): e93135.
- [39] Colquhoun Alison. Gamma-linolenic acid alters the composition of mitochondrial membrane subfractions, decreases outer mitochondrial membrane binding of hexokinase and alters carnitine palmitoyl transferase I properties in the Walker 256 rat tumour.[J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2002, 1583(1).
- [40] 韩光明. 饲料脂肪水平对吉富罗非鱼生长、体脂沉积、脂肪酸组成及脂肪酸合成酶的影响[D]. 南京: 南京农业大学, 2009.
Han G M. Effects of feed fat levels on growth, body fat deposition, fatty acid composition and fatty acid synthase of tilapia[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2009(in Chinese).
- [41] Bonen A, Parolin M L, Steinberg G R, *et al.* Triacylglycerol accumulation in human obesity and type 2 diabetes is associated with increased rates of skeletal muscle fatty acid transport and increased sarcolemmal FAT/CD36.[J]. *Faseb Journal Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 2014, 18(10): 1144-1146.

Effects of dietary lipid levels on the expression of *CPT1* in *Micropterus salmoides*

SONG Mingqi, ZHONG Yunfei, GUO Jialing, CHEN Yongjun, LUO Li, LIN Shimei*

(Key Laboratory of Freshwater Fish Reproduction and Development, Ministry of Education, College of Animal Science and Technology, Southwest University, Chongqing 400716, China)

Abstract: To study the effect of lipid level on the expression of carnitine palmitoyl transferase I (*CPT1*) gene in the body tissues of *Micropterus salmoides* and the expression patterns of different growth stages, three different isonitrogenous diets with graded levels of lipid [6% (low lipid), 12% (medium lipid) and 18% (high lipid)] were fed to *M. salmoides* with the initial weight of (23.60 ± 1.26) g. Tissue samples of liver, intestine, kidney and muscle were taken on the 30th, 60th and 90th day of feeding, and the 18S was used as the internal reference gene. The real-time PCR experiment was performed with *CPT1* specific primers, and the relative expression data of *CPT1* gene were obtained by $2^{-\Delta\Delta C_t}$ method. The results showed that the expression level of *CPT1* gene was the highest in the liver, followed by intestine and kidney, and the expression level was lower in gill filament, heart, muscle, stomach, brain and spleen; at different fat levels, the expression of *CPT1* increased with the increase of lipid level; in different growth stages, the expression of *CPT1* increased with the prolongation of feeding time. The results showed that the increase of lipid level and feeding time would induce the expression of *CPT1* gene, and *CPT1* gene may play a certain role in the decomposition of fat in *M. salmoides*.

Key words: *Micropterus salmoides*; lipid level; *CPT1*; gene expression; qPCR

Corresponding author: LIN Shimei. E-mail: linsm198@163.com

Funding projects: National Natural Science Foundation of China (31672659)