

大菱鲆 29 个脂质代谢相关基因的组织表达

刘国旭^{1,2}, 孟晓雪^{1,2}, 马强², 卫育良², 梁萌青², 徐后国^{2*}

(1. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306;

2. 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 山东 青岛 266071)

摘要: 不同鱼类的脂肪组织分布模式具有高度多样性。大菱鲆具有相对特殊的脂质储存模式; 鳍条附近皮下脂肪组织是其重要的脂肪存储部位。为了更好地了解大菱鲆的脂质代谢生理, 本实验初步研究了 29 个脂质代谢相关基因在大菱鲆体内的组织表达, 这些基因参与了脂肪生成、脂肪酸 β 氧化、甘油酯的生物合成和水解、脂质运输以及相关的脂代谢转录调控过程。从 30 尾鱼 (10 尾混样作为一个重复) 中采集眼、鳃、脑、皮肤、肌肉、肝脏、胃、肾脏、脾脏、心脏、前肠、幽门盲囊、后肠、盲肠和脂肪等共 15 个组织样本进行 qRT-PCR 分析。结果显示, 肠和脑中脂肪生成基因表达量高, 肝脏和肌肉脂肪生成基因表达量低。肠内大部分载脂蛋白和脂质代谢相关转录因子的基因表达水平也较高。肌肉中脂肪酸 β 氧化相关基因的表达水平较低。细胞内甘油酯酶在脑、眼和心脏中高表达。研究表明, 在大菱鲆体内, 肠道可能不仅是脂质摄取的场所, 也是大菱鲆体内重要的脂肪代谢器官。本研究为进一步探讨大菱鲆脂代谢特征及探索不同储脂类型鱼类中脂肪代谢的多样性提供了基础数据, 也将有助于在分子水平上进一步研究鱼类的脂质代谢调节。

关键词: 大菱鲆; 基因组织分布; 脂质代谢; 脂质储存模式; 鱼类肠道功能

中图分类号: Q 786; S 917.4

文献标志码: A

与哺乳动物不同, 鱼类不能很好地利用碳水化合物作为能量来源, 因此, 脂质是鱼类除蛋白质之外的最主要能量来源, 同时, 脂肪和脂肪酸还在鱼类的生理、发育和生殖过程中发挥重要作用^[1]。脂质代谢是一个复杂的生理过程, 包括脂质的吸收、运输、沉积和供能动员等过程, 许多关键酶和转录因子参与了这些代谢过程^[2]。

在鱼类中, 脂肪组织的分布具有多样化的特点。同时, 脂肪组织的分布对脂肪代谢具有重要的影响。脂肪组织不但是脂质存储器官, 也是脊椎动物重要的代谢器官, 可以调节能量稳态并参与生物体内多个生理生化反应^[3]。不同鱼类的脂

肪组织分布模式具有较大差异, 如红鳍东方鲀 (*Takifugu rubripes*) 的脂质几乎完全储存在肝脏中, 没有腹膜内脂肪组织, 肌肉中的脂质含量也非常低^[4]。鲑鳟鱼类则将很大一部分脂质储存在骨骼肌中^[5-6]。草鱼 (*Ctenopharyngodon idella*)、莫桑比克罗非鱼 (*Oreochromis mossambicus*)、卵形鲳鲹 (*Trachinotus ovatus*) 和大黄鱼 (*Larimichthys crocea*) 则以肠系膜脂肪组织为主, 紧密地包裹在肠道周围^[7]。牙鲆 (*Paralichthys olivaceus*) 的脂肪组织分布在眼侧和鱼鳍, 将肝脏及鱼鳍周围的皮下组织作为脂肪储存的主要部位^[8]。

大菱鲆 (*Scophthalmus maximus*) 是我国重要的

收稿日期: 2022-03-21 修回日期: 2022-08-26

资助项目: 中国水产科学研究院黄海水产研究所基本科研业务费专项 (20603022022004, 2020TD48)

第一作者: 刘国旭 (照片), 从事水产动物营养与饲料研究, E-mail: lduliuguoxu@163.com

通信作者: 徐后国, 从事水产动物营养与饲料研究, E-mail: xuhg@ysfri.ac.cn



海水经济养殖鱼类, 其生长速率快、抗逆性强、肉质鲜美, 目前已成为我国北方海水养殖产业的支柱之一^[9]。大菱鲆内脏中脂肪组织很少, 利用核磁共振成像 (MRI) 技术在其皮肤下检测到了清晰的脂肪信号, 而在内脏中脂肪信号不明显, 这表明在大菱鲆中, 鳍条附近的皮下脂肪组织是其主要的脂肪组织^[5]。一般认为内脏脂肪组织、肝脏和肌肉是鱼类脂肪沉积的主要部位^[5], 但事实上皮下和内脏脂肪组织容易受到营养、病理或环境因素的影响, 被认为是许多代谢综合征的预测

因子^[10], 皮下脂肪组织应引起更多的关注。

以大菱鲆为模型研究脂肪代谢关键基因表达的组织差异, 有助于揭示特定储脂类型鱼类中的典型脂肪代谢特征, 从而有助于完善鱼类脂肪代谢理论。本研究对大菱鲆全组织 29 个脂质代谢关键基因 (表 1) 的组织差异表达进行分析, 以初步探究大菱鲆不同组织中的脂质代谢特点。该 29 个关键基因所涉及的生理过程包括脂肪酸合成、脂肪酸 β 氧化、甘油三酯的合成和水解、脂质运输、脂质代谢以及胆汁酸和胆固醇代谢。研究结果将

表 1 关键基因的缩写及功能对照表

Tab. 1 Abbreviation and function of genes investigated

缩写 abbreviation	中文全称 full Chinese name	英文全称 full English name	功能 function
<i>ACACβ</i>	乙酰辅酶A羧化酶 β	acetyl CoA carboxylase β	催化乙酰辅酶A羧化为丙二酰辅酶A, 脂肪酸从头合成的起始步骤
<i>FAS</i>	脂肪酸合成酶	fatty acid synthase	催化由乙酰辅酶A和丙二酰辅酶A开始的长链饱和脂肪酸的生物合成
<i>SCD1</i>	硬脂酰辅酶A去饱和酶	stearoyl-CoA desaturase	参与 $\Delta 9$ 去饱和途径将16:0和18:0分别转化为16:1n-7和18:1n-9
<i>ACOX</i>	过氧化物酶体酰基辅酶A氧化酶	peroxisomal acyl-coenzyme A oxidase	催化酰基辅酶A去饱和和为烯醇辅酶A, 是过氧化物酶体脂肪酸 β 氧化的关键酶
<i>CPT1</i>	肉碱酯酰转移酶	carnitine O-palmitoyltransferase 1	催化长链脂肪酸辅酶A的酰基转移到肉碱, 是线粒体脂肪酸 β 氧化的关键酶
<i>GPAT</i>	甘油磷酸酰基转移酶	glycerol-3-phosphate acyltransferase	将酰基从酰基ACP酯化到甘油-3-磷酸的sn-1位, 介导甘油磷酸合成甘油三酯的第一步
<i>DGAT</i>	二酰基甘油酰基转移酶	diacylglycerol O-acyltransferase 1	催化以二酰甘油为底物合成三酰甘油的过程
<i>ATGL</i>	脂肪甘油三酯脂肪酶	adipose triacylglyceride lipase	催化脂肪细胞内甘油三酯的水解
<i>HSL</i>	激素敏感性甘油三酯脂肪酶	hormone-sensitive lipase	催化甘油酯水解
<i>DAGLα</i>	二酰甘油脂肪酶 α	diacylglycerol lipase, alpha	水解二酰基甘油中的sn-1位脂肪酸
<i>MGLL</i>	单酰甘油脂肪酶	monoglyceride lipase	将单酰基甘油酯转化为游离脂肪酸和甘油
<i>PL</i>	胰脂肪酶	pancreatic lipase	参与脂肪消化过程的脂肪水解, 把甘油三酯去掉sn-1,3位置的脂肪酸, 变成单酰甘油酯
<i>BSAL</i>	胆盐激活脂肪酶	bile salt activated lipase	脂肪消化过程中的非特异性脂肪酶, 非特异性地催化胆固醇酯、磷脂、溶血磷脂、二酰和三酰甘油以及羟基脂肪酸的脂肪酸酯的水解, 可将甘油三酯完全水解为甘油和脂肪酸
<i>LPL</i>	脂蛋白脂肪酶	lipoprotein lipase	催化血浆脂蛋白中甘油三酯的水解
<i>HL</i>	肝脂酶	hepatic lipase	催化血浆脂蛋白中存在的甘油三酯和磷脂的水解
<i>Apo</i>	载脂蛋白	apolipoprotein	与脂质构成脂蛋白
<i>PPAR</i>	过氧化物酶体增殖物激活受体	peroxisome proliferator-activated receptor	脂肪酸代谢基因转录调控因子
<i>SREBP1</i>	胆固醇调节元件结合蛋白	sterol-regulatory element binding proteins 1	参与胆固醇生物合成和脂质稳态的基因转录调控
<i>LXRα</i>	肝X受体	liver X receptor	通过泛素化脂蛋白受体调节胆固醇的摄取和合成
<i>HNF4α</i>	肝细胞核因子4 α	hepatocyte nuclear factor 4 α	脂肪酸代谢基因转录调控因子
<i>HMG-COAr</i>	3-羟基-3-甲基戊二酰-CoA还原酶	3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase	胆固醇合成关键酶
<i>CYP7A1</i>	胆固醇7 α 羟化酶	cholesterol 7 α -hydroxylase	胆汁酸合成关键酶

有助于更好地了解大菱鲂脂代谢特点, 从而有助于更科学的脂肪营养管理。

1 材料与方法

1.1 实验对象

本研究采用黄海水产养殖有限公司(中国海阳)提供的同一批大菱鲂幼鱼(平均体重约 20 g)。采样前, 用商品饲料(蛋白质含量 50%, 干物质脂肪含量 10%)喂养 1 个月。从 30 尾鱼中采集眼、鳃、脑、皮肤、肌肉、肝脏、胃、肾脏、脾脏、心脏、前肠、幽门盲囊、后肠、盲肠和鳍条附近皮下脂肪组织(在后续图表及描述中以“脂肪组织”简称)的样本, 每个组织中收集 10 尾鱼的等量样品作为一个生物学重复, 共 3 个生物学重复。实验过程中操作人员严格遵守动物实验伦理规范, 并按照相关的规章制度执行。

1.2 RNA 提取、cDNA 合成、实时定量 PCR 反应 (qRT-PCR) 分析

使用 RNAiso Plus [宝生物工程(大连)有限公司]提取样本(每个组织 3 个重复)中的总 RNA。

将组织样品(50~100 mg)用液氮研磨成粉末状, 加入 1 mL Trizol 试剂在 Rnase free 管中充分混合。离心(12 000×g, 4 °C, 10 min)后, 取上清液转移到新离心管中, 加入 0.2 mL 氯仿, 剧烈振荡 30 s, 冰上静置 3 min。离心(12 000×g, 4 °C, 15 min), 将上清液转到新离心管中, 加入等体积异丙醇, 混匀, -20 °C 保存 20 min。离心(12 000×g, 4 °C, 10 min), 弃上清液, 管底和管壁形成 RNA 沉淀, 加入 1 mL 75% 乙醇, 混匀, 离心(12 000×g, 4 °C, 10 min), 再弃上清液, 加 1 mL 75% 乙醇, 混匀, 离心(12 000×g, 4 °C, 10 min)。弃上清液, 将上清液风干, 加 DEPC 水(20~30 μL)溶解获得的 RNA。使用 1.5% 的琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 的污染和降解度。用 Colibri 超微量分光光度计(Titertek-Berthold, 德国)对 RNA 的浓度和纯度进行检测。然后根据用户手册使用 Evo M-mLV RT Mix Kit with gDNA Clean for qPCR(艾科瑞生物技术有限公司, 长沙)进行反转录, 用于后续的实时荧光定量分析。

根据 NCBI 中的序列设计目标基因和内参基因的引物(表 2), 由擎科生物科技有限公司(青

表 2 实验所涉及的引物序列

Tab. 2 Sequences of the primers used

引物 primer	序列(5'-3') sequence	GenBank 登录号 GenBank reference	产物长度/bp product length
<i>ACACβ</i> -F	AATGCCGTTCTATTCGTC	XM_035639393	256
<i>ACACβ</i> -R	GAGCCTGTCTGAACATCTCG		
<i>FAS</i> -F	GGCAACAACACGGATGGATAC	KC189927.1	205
<i>FAS</i> -R	CTCGCTTTGATTGACAGAACAC		
<i>SCD1</i> -F	CTTCTTCATCCCCATGTCTGTGC	XM_035612833.1	225
<i>SCD1</i> -R	TGGTAGTTGTGGTATCCCTCGCC		
<i>ACO1</i> -F	GATCATCGGCACCTACGCT	XM_035638508.1	119
<i>ACO1</i> -R	TGACTGTGGGACTGTCAAGAC		
<i>ACO3</i> -F	CAGGGCAATTACTTGAGCG	XM_035623459.1	131
<i>ACO3</i> -R	TTGAGGATGAAATCAGTGGGT		
<i>CPT1</i> -F	GCCTTTCAGTTCACCATCACA	XM_035614266.1	113
<i>CPT1</i> -R	ATGCGGCTGACTCGTTTCTT		
<i>GPAT</i> -F	GTCGCAGCTAAAACCAAAC	XM_035607968.1	199
<i>GPAT</i> -R	TCCGCAGCAGGTAACCTCAT		
<i>DGAT1</i> -F	ATGTACTACTTTGTCTTTGCC	KC189938.1	180
<i>DGAT1</i> -R	GAATGGTTTCATTGAGTTCTGT		
<i>ATGL</i> -F	GCGAAAAGAGGCAAGAAAGCGA	XM_035643755.1	263
<i>ATGL</i> -R	TGTAGTGC GGAGGGATAAGG		
<i>HSL</i> -F	GCGTGCCCTGCTCTACTTG	XM_035629599.1	89
<i>HSL</i> -R	TCTCGCTGAGGCCACTTTC		

· 续表 2 ·

引物 primer	序列(5'-3') sequence	GenBank登录号 GenBank reference	产物长度/bp product length
<i>DAGLa</i> -F	CAGATGGACAGCAGTTGGATGA	XM_035628256.1	148
<i>DAGLa</i> -R	GACGATGACAGAGGGAAGGAGG		
<i>MGLL</i> -F	CTGCTGCTCGTGAACCTCTG	XM_035628286	84
<i>MGLL</i> -R	CGACTTCTTGCTGCTAATGT		
<i>PL</i> -F	TCAGGGCTTTCTGGGATT	XM_035605303	289
<i>PL</i> -R	GAGCTGGAACCTCGTTGGTG		
<i>BSAL</i> -F	CGCCGCTCTGACATTAGC	XM_035609042	289
<i>BSAL</i> -R	AGCCTTGCCCTTCTCCCT		
<i>LPL</i> -F	CTCCACGAACGCTCTAT	JQ690822	166
<i>LPL</i> -R	GCGGACCTTGTTGATGTT		
<i>HL</i> -F	GGGCTACGACATCAAGAAG	XM_035629475	197
<i>HL</i> -R	TGAAGGAGATATGGAGGTTT		
<i>ApoA1</i> -F	CAGCCTGGAGCAGAGTGT	XM_035637559	170
<i>ApoA1</i> -R	CCATTTGTTTACCGAGTT		
<i>ApoA4</i> -F	AGGATGCTTTCTGGGACTATGT	XM_035620874	101
<i>ApoA4</i> -R	GAGGCTGTTCACTTCCTTTCC		
<i>ApoB100</i> -F	TCTACCCTCGGTCTCGG	XM_035617338.1	158
<i>ApoB100</i> -R	TTCAGGTTTCTCCTCACAACGA		
<i>ApoEa</i> -F	GGCAGCAGATGGAGAAGT	XM_035620876	277
<i>ApoEa</i> -R	TTCAGCAGGTCGTTTCAGG		
<i>PPARa1</i> -F	GCCTGGTGAATGTGGAGCA	JN253593.1	103
<i>PPARa1</i> -R	GGGAAGAGGAACGTGTCGT		
<i>PPARa2</i> -F	CCCTGATAACACCTTCTCTTTCCC	JQ901838.1	109
<i>PPARa2</i> -R	TGTCCTGGTCGTCTTGATGTCCTG		
<i>PPARβ</i> -F	ACGGCAAAGGCTTCGTTACC	XM_035643796.1	147
<i>PPARβ</i> -R	CTAATGGCAGCAACAAACAGG		
<i>PPARγ</i> -F	AAGTGACGGAGTTCGCAAGA	XM_035631101.1	121
<i>PPARγ</i> -R	GTTTCATCAGAGGTGCCATCA		
<i>SREBF1</i> -F	CAGACCAGCAATGCGAAGAT	XM_035615397.1	224
<i>SREBF1</i> -R	CAGGAGCCGACAGGAAGGAG		
<i>LXRα</i> -F	GCGTCATCAAGAGTGCCC	XM_035627821.1	153
<i>LXRα</i> -R	ATCTGATTTGCTCCTCCGAG		
<i>HNF4α</i> -F1	ATGCTTCTCGGAGGTCTG	XM_035646017.1	247
<i>HNF4α</i> -R1	GAGGGATTGAGGTTGGCTG		
<i>HMG-CoAr</i> -F	CCACGAGCAATGTTGTCCC	JN542428.1	206
<i>HMG-CoAr</i> -R	TTAGGCATCGCTGGTCTTTT		
<i>CYP7A1</i> -F	TCAAATAGCCAGCGCAAAC	XM_035635553.1	227
<i>CYP7A1</i> -R	CCATGACAGCTTCGACCCCTC		
<i>EF1α</i> -F	TATTAACATCGTGGTCATTGG	KU057926.1	153
<i>EF1α</i> -R	CAGGCGTACTTGAAGGAG		
<i>RPL13</i> -F	GACTCCCGCCGTCGTAAC	XM_035628959.1	108
<i>RPL13</i> -R	GGGGCAGAAGCCTTCTCT		

岛)合成。内参基因选用在大菱鲆各组织均稳定表达的 *EF1α* 和 *RPL13*。梯度稀释的模板用于验证目标基因, 绘制标准曲线, 所有引物的扩增效率

为 95%~105%, 线性回归系数 (R^2) 大于 0.99。采用 SYBR[®] Green Pro Taq HS 预混型 qPCR 试剂盒 II (艾科瑞生物技术有限公司, 长沙) 和实时荧光

定量 PCR 仪 (Roche, 瑞士) 进行 qPCR 反应。反应体系由 2 μL cDNA 模板 (稀释 10 倍)、10 μL SYBR[®] Green Pro Taq HS Premix II (2 \times)、0.8 μL 正向引物 (10 $\mu\text{mol/L}$)、0.8 μL 反向引物 (10 $\mu\text{mol/L}$) 和 6.4 μL 无菌水组成。程序: 95 $^{\circ}\text{C}$ 30 s; 95 $^{\circ}\text{C}$ 5 s, 57 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 40 个循环。在 PCR 反应结束时, 系统地进行熔解曲线 (95 $^{\circ}\text{C}$ 10 s, 65 $^{\circ}\text{C}$ 60 s, 97 $^{\circ}\text{C}$ 1 s) 分析, 每个样品 3 个重复。采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法研究各基因的表达水平^[11]。对某个基因, 以表达量最低的组织中的表达量作为 1, 其他组织中的表达量表示为该组织表达量的倍数。

1.3 数据分析

用 SPSS 16.0 软件对基因表达数据进行单因素方差分析。采用 Tukey 氏的多重检验来检测均值之间的显著差异。显著性水平为 $P < 0.05$ 。但由于不同组织间的数量级差异, 大多数数据无法通过方差齐性检验。因此结果中没有使用 P 值和标准误, 仅以平均值表示。

2 结果

2.1 脂肪合成相关基因

本研究对 *ACAC β* 、*FAS* 和 *SCD1* 这 3 个脂质合成基因进行了定量分析 (图 1)。*ACAC β* 在心脏和肠中表达量最高, 在脂肪组织中表达量最低。*FAS* 和 *SCD1* 均在脑中表达量最高, 在肝脏中表达量最低, 另外, *SCD1* 在眼中表达量也相对较高。

2.2 脂肪氧化分解相关基因

ACOX1 与 *ACOX3* 的组织表达分布模式相似, 均在肠中表达量最高, 在脂肪组织和肌肉中表达量最低, 另外 *ACOX1* 在脑中表达量也较高 (图 2)。*CPT1* 在鳃中表达量最高, 其次是肾脏、脑和胃, 在肝脏和肠中表达量最低。

2.3 甘油三酯合成

GPAT3 在肝脏中表达量最高, 在脂肪组织和肌肉中表达量最低 (图 3)。*DGAT* 在盲肠中表达量最高, 其次是前肠和后肠, 在心脏和鳃中表达量最低。

2.4 甘油三酯水解

ATGL 主要在肝脏中表达, 其次是心脏 (图 4)。*HSL* 在眼中表达量最高, 其次是脂肪组织, 在肠道中表达量很低。*DAGL α* 在脑中表达量最高, 其

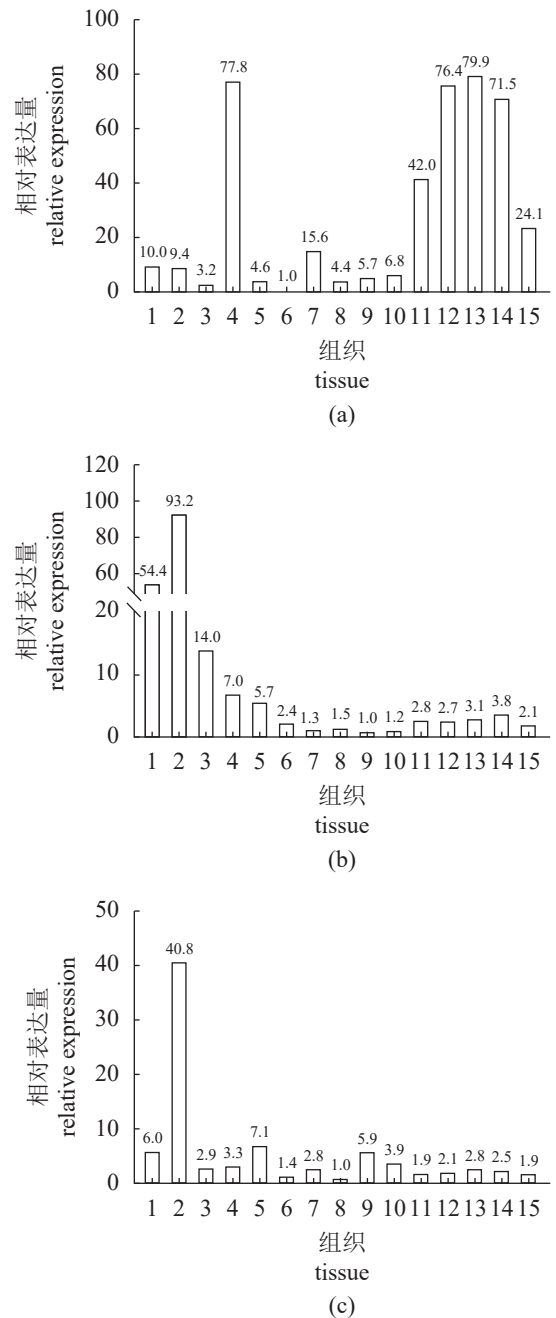


图 1 大菱鲆脂肪合成基因的组织分布

(a) *ACAC β* , (b) *FAS*, (c) *SCD1*。以表达量最低的组织中的表达量为 1。1. 眼, 2. 脑, 3. 鳃, 4. 心脏, 5. 皮肤, 6. 脂肪组织, 7. 肌肉, 8. 肝脏, 9. 肾脏, 10. 脾脏, 11. 胃, 12. 幽门, 13. 前肠, 14. 后肠, 15. 盲肠; 下同。

Fig. 1 Tissue distribution of lipogenic genes in *S. maximus*

(a) *ACAC β* , (b) *FAS*, (c) *SCD1*. The expression in the tissue with the lowest expression is 1. 1. eye, 2. brain, 3. gill, 4. heart, 5. skin, 6. adipose tissue, 7. muscle, 8. liver, 9. kidney, 10. spleen, 11. stomach, 12. pylorus, 13. foregut, 14. hindgut, 15. cecum; the same below.

次是眼睛和心脏, 在肝脏中表达量最低。*MGLL* 在脑中表达量最高, 在肌肉中表达量最低。

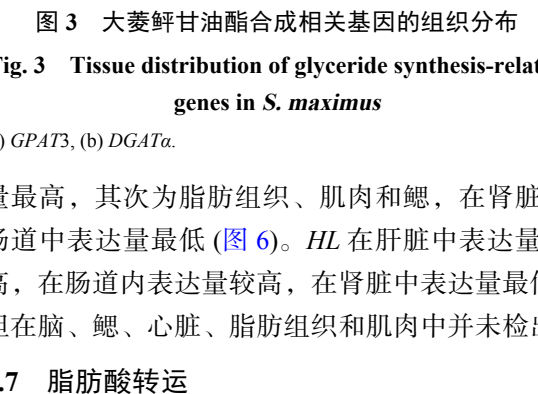
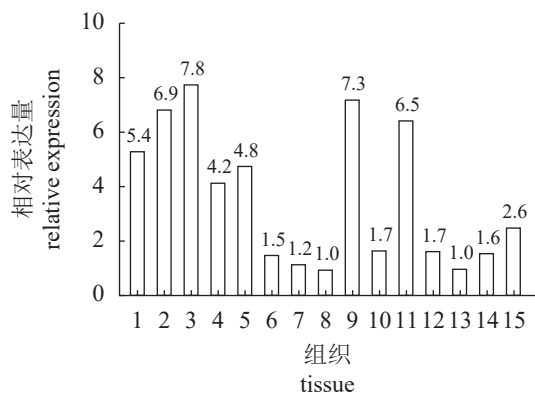
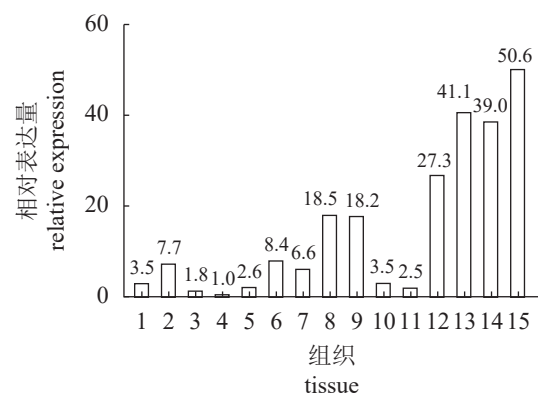
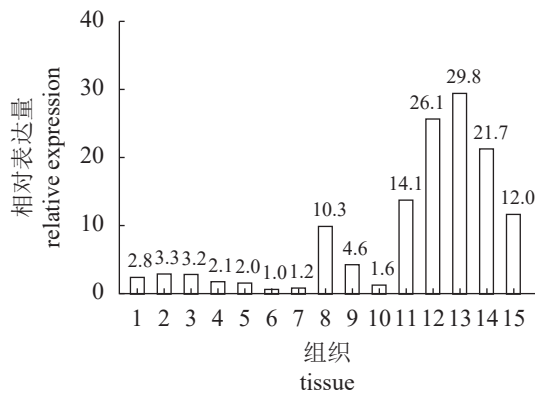
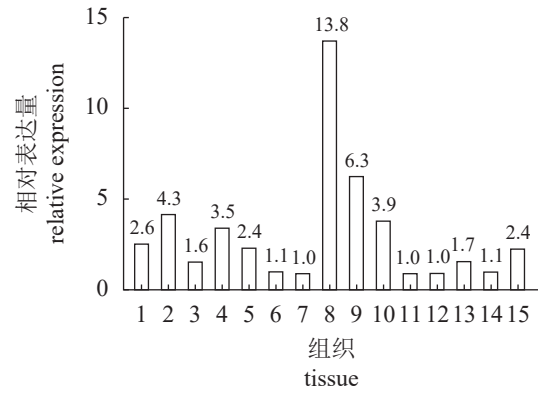
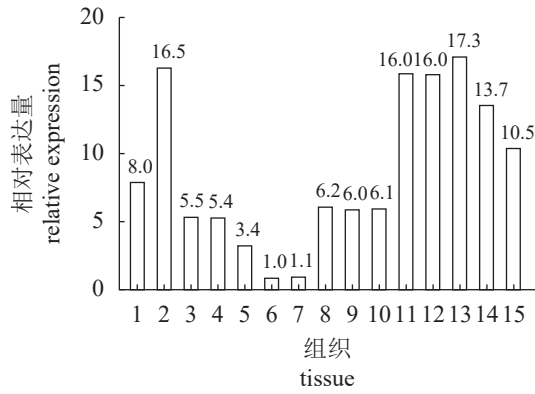


图2 大菱鲂脂肪氧化分解基因的组织分布

Fig. 2 Tissue distribution of fat oxidative decomposition genes in *S. maximus*

(a) *ACOX1*, (b) *ACOX3*, (c) *CPT1*.

2.5 肠道内甘油酯水解

PL 和 *BSAL-Like* 在大菱鲂中组织分布相似, 均在幽门盲囊、肠道和脾脏中表达量较高, 在鳃、心脏和肾脏中表达量较低 (图5)。

2.6 血管内甘油酯水解

LPL 在所有组织中均有表达, 在肝脏中表达

图3 大菱鲂甘油酯合成相关基因的组织分布

Fig. 3 Tissue distribution of glyceride synthesis-related genes in *S. maximus*

(a) *GPAT3*, (b) *DGATa*.

量最高, 其次为脂肪组织、肌肉和鳃, 在肾脏和肠道中表达量最低 (图6)。 *HL* 在肝脏中表达量最高, 在肠道内表达量较高, 在肾脏中表达量最低, 但在脑、鳃、心脏、脂肪组织和肌肉中并未检出。

2.7 脂肪酸转运

载脂蛋白的组织分布非常不平衡。 *ApoA1* 在所有组织中都有表达, 但在肝脏和肠道中的表达水平极高 (图7)。 *ApoA4* 在肠道中表达量极高, 在肝脏中表达量中等, 但其他组织中几乎未检出。 *ApoB100* 在肝脏和肠道中表达量极高, 在眼、脑和鳃等部位表达量极低。 *ApoEa* 主要在肠和肝脏中表达, 在其他组织中表达量较低。

2.8 胆汁酸和胆固醇代谢

HMF-CoAr 在各组织中均有表达, 在肠道中表达量最高, 其次为肝脏, 在肌肉中表达量最低 (图8)。 *CYP7A1* 在肠道和肝脏中表达量很高, 在

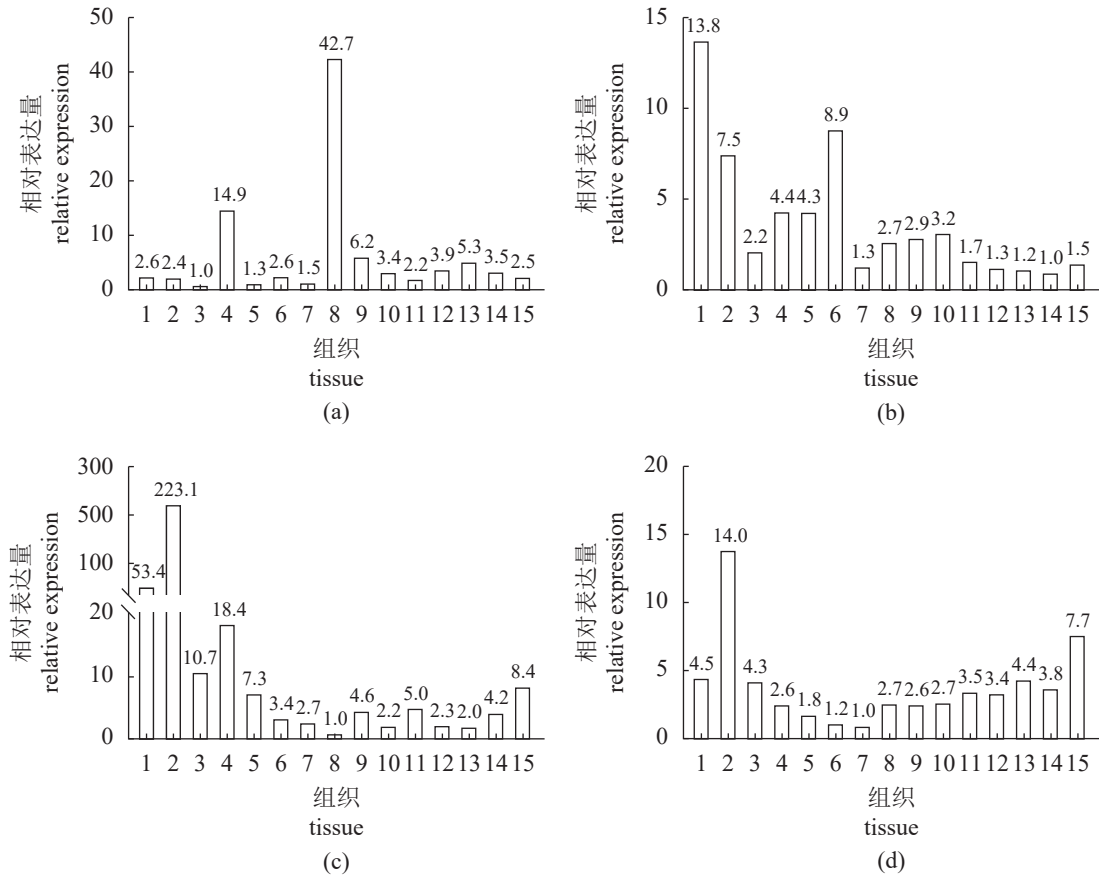


图 4 大菱鲂细胞内甘油酯酶的组织分布

Fig. 4 Tissue distribution of intracellular glyceridases in *S. maximus*

(a) *ATGL*, (b) *HSL*, (c) *DAGLα*, (d) *MGLL*.

其他组织中表达量很低, 且在心脏、肌肉和脂肪组织中并未检测到其表达。

2.9 脂代谢相关转录因子

PPARα 在所有组织中均有表达, 但 *PPARα1* 和 *PPARα2* 的组织分布模式不同 (图 9)。 *PPARα1* 在肠中高表达, 其次是胃, 而 *PPARα2* 在心脏中高表达, 在其他组织中表达量较低。 *PPARβ* 在肝脏中表达量最高, 在其他组织中表达量较低。 *PPARγ* 在肠中表达量较高, 在肝脏中具有中等表达量, 在其他组织中表达量较低。 *SREBP1* 在所有组织中均有表达, 在眼和脑中表达量最高。 *LXR-α* 在肝脏中表达量最高, 其次为肾脏和脾脏。 *HNF4α* 在肠道中表达量较高, 在肝脏中具有中等表达量, 在其他组织中表达量很低。

3 讨论

分析脂代谢基因的组织分布有助于更好地理

解这些基因在脂肪代谢中的生理作用, 也有助于了解不同组织在脂肪代谢中的特定功能。脂肪合成相关基因 *ACACβ*、*FAS* 和 *SCD1* 在大菱鲂肝脏中的表达量都很低。 *ACACβ* 和 *FAS* 是催化脂肪酸生物合成的关键酶, *SCD1* 可以通过 $\Delta 9$ 去饱和途径, 将 16: 0 和 18: 0 分别转化为 16: 1 和 18: 1^[12]。 *ACACβ* 在肠中表达量最高, *FAS* 和 *SCD1* 在脑中表达量最高, 与脂肪生成有关的转录因子 *PPARα1* 和 *HNF4α* 也在大菱鲂的肠道中高表达, 这表明在大菱鲂体内, 肠道和大脑的脂肪生成可能比肝脏更活跃。 LC-PUFA (long chain polyunsaturated fatty acids, $C \geq 20$) 在促进神经系统的发育方面发挥着重要作用^[13]。 *FAS* 和 *SCD1* 在大菱鲂的脑中高表达, 可能是因为这些脂肪酸在大脑中被选择性合成以满足自身需求。肠道是重要的消化器官, 脂质在其中被消化和吸收。然而, 目前的结果表明, 肠道可能不仅是营养吸收的场所, 也是 LC-PUFA 生物合成的重要器官^[14]。在其他鱼

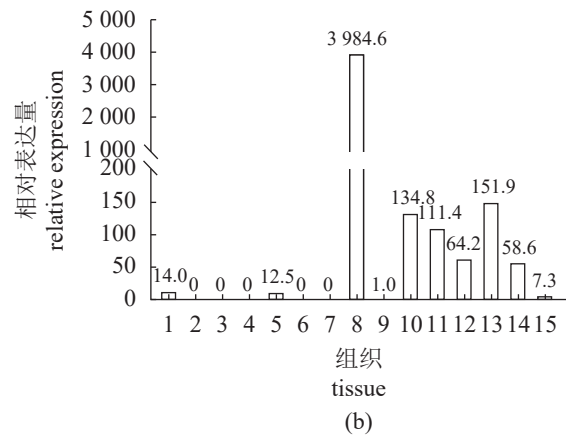
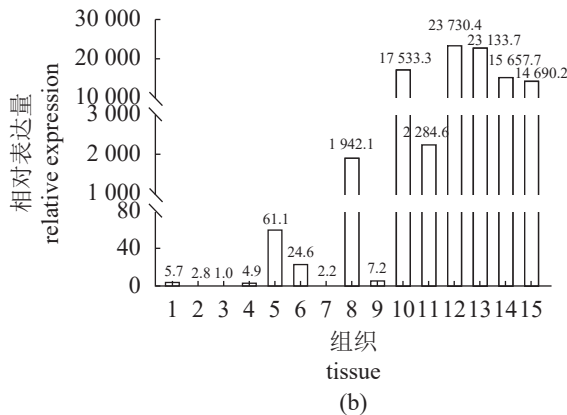
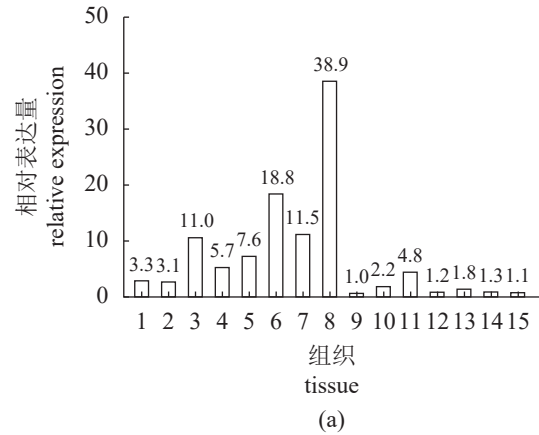
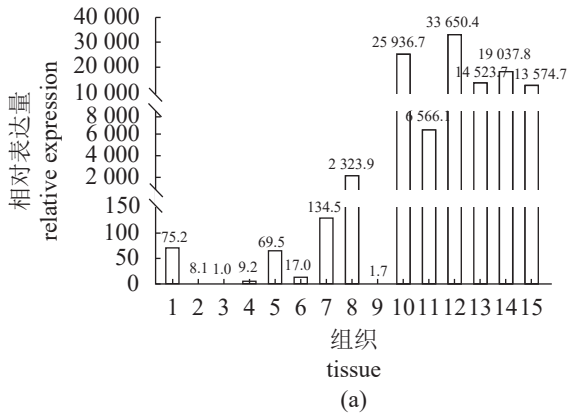


图 5 大菱鲆肠道内甘油酯酶的组织分布

Fig. 5 Tissue distribution of glycerol esterase in the intestine of *S. maximus*

(a) PL, (b) BSAL-Like.

类物种中也观察到了这种情况，如舌齿鲈 (*Dicentrarchus labrax*)^[15]、红鳍东方鲀^[4]和大西洋鲑 (*Salmo salar*)^[16-17]。尤其是在大西洋鲑 (*Gadus morhua*) 中，肠细胞的 LC-PUFA 生物合成比肝细胞高 7 倍^[18]。虽然在很多鱼类中，肝脏被证明是脂肪生成的主要部位^[19-20]，但本研究的结果表明，肠道在大菱鲆的脂质合成中起着重要作用。

脂肪酸氧化代谢主要通过线粒体 β 氧化进行^[21]。CPT 1 是线粒体内脂肪酸 β 氧化的限速酶，催化酰基辅酶 A 转化为酰基肉碱进入线粒体基质^[22]。CPT 1 在大菱鲆鳃中高表达，这与矛尾复虾虎鱼 (*Synechogobius hasta*)^[23] 组织分布结果一致。但在红鳍东方鲀^[4] 和黄颡鱼 (*Pelteobagrus fulvidraco*)^[24] 中，CPT 1 主要在心脏和肌肉这些具有高脂肪酸 β 氧化需求的组织中表达。鉴于 CPT1 在脂肪代谢和能量稳态中的意义，不同鱼类之间 CPT1 基因的差异表达可能与其对能量需求和营养状况变化的反应有关^[23]。并且，CPT 1 存在两种亚型，在

图 6 大菱鲆血管中甘油酯酶的组织分布

Fig. 6 Tissue distribution of intravascular glycerol esterase in *S. maximus*

(a) LPL, (b) HL.

哺乳动物中，CPT-1A 广泛表达于肝脏、脾脏、肠道和心脏等大多数组织中，而 CPT-1B 主要表达于肌肉、脂肪组织、心脏和睾丸^[25]。两种 CPT 1 亚型 (CPT-1A 和 CPT-1B) 在代谢过程和调节中可能起到不同的作用^[23]。

ACOX1 与 ACOX3 是过氧化物酶体脂肪酸 β 氧化的限速酶，催化酰基辅酶 A 去饱和为烯醇辅酶 A^[26]。一般来说，肝脏是过氧化物酶体脂肪酸 β 氧化的主要部位，在南极隆头鱼 (*Notothenia gibberifrons*) 中，过氧化物酶体 β 氧化可能占肝脏总活性的 30%^[27]。但在大菱鲆中，ACOX1 与 ACOX3 主要在肠道中表达，这与大西洋鲑的组织表达结果一致^[4]，但是目前关于鱼类过氧化物酶体脂肪酸 β 氧化的文献较少，关于肠细胞过氧化物酶体脂肪酸代谢，以及肝细胞和其他细胞中脂肪酸过氧化物酶体脂肪酸 β 氧化途径的相互作用还有待研究^[28]。

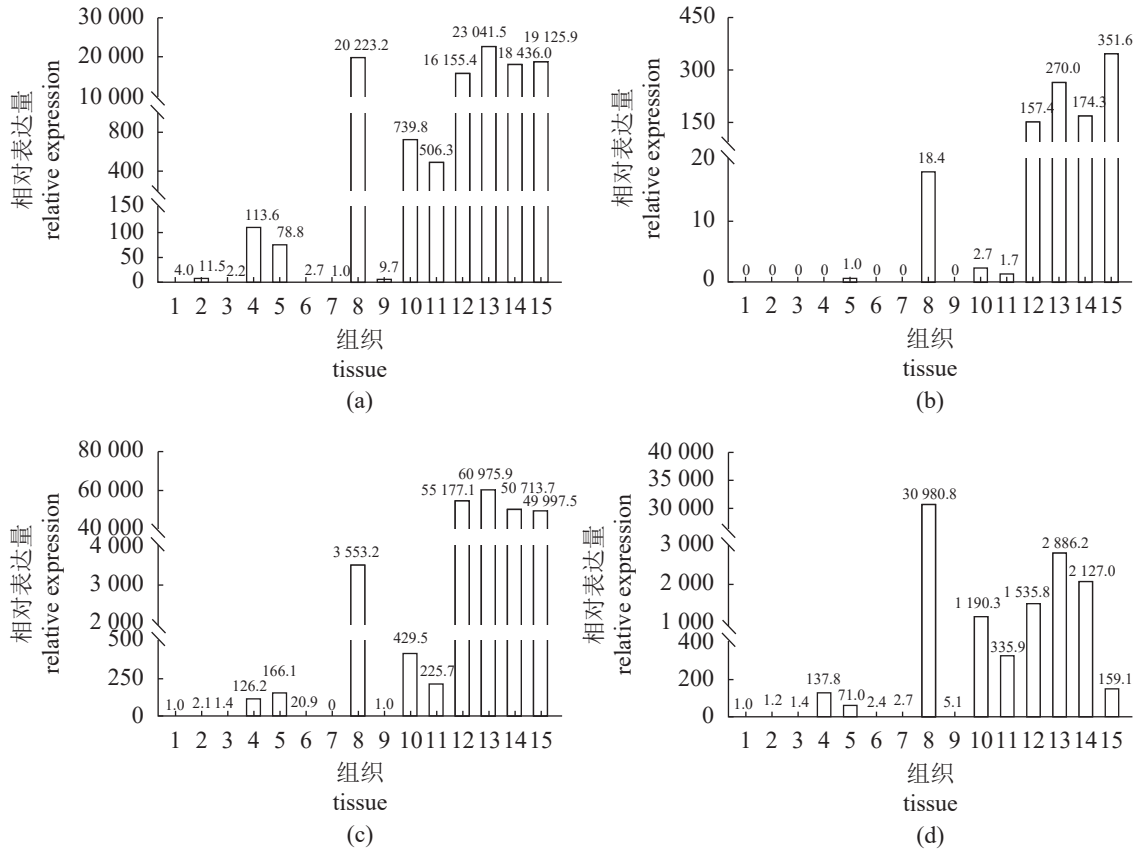


图 7 大菱鲆载脂蛋白基因的组织分布

Fig. 7 Tissue distribution of apolipoprotein genes in *S. maximus*

(a) *ApoA1*, (b) *ApoA4*, (c) *ApoB100*, (d) *ApoEa*.

关于甘油三酯的生物合成和水解, *GPAT3*、*DGAT*、*ATGL*、*HSL*、*DAGLα* 和 *MGLL* 的组织表达特点很好地表明了大菱鲆脂肪消化和吸收的特点。肠道中甘油三酯 (TAG) 的合成有两种路径: 一条是甘油一酯 (MAG) 路径, 就是把吸收的 MAG 在单酰甘油酰基转移酶 (*MGAT*) 作用下, 变成二酰甘油 (DAG), 然后再在二酰基甘油酰基转移酶 (*DGAT*) 作用下变成 TAG。另一条是甘油-3-磷酸 (G-3-P) 路径, 它以甘油为底物, 甘油先通过甘油激酶磷酸化, 生产 α-甘油磷酸(或者直接以糖酵解产生的 α-甘油磷酸为底物)。α-甘油磷酸在甘油-3-磷酸酰基转移酶 (*GPAT*) 作用下生成二酰甘油^[29], 接着 *DGAT* 发挥作用, 生成 TAG^[30]。在本研究中, *DGAT* 在肠道中高表达, 而 *GPAT* 只在肝脏中高表达。这表明在大菱鲆中, MAG 途径可能比 G-3-P 途径占优势。

两种主要脂肪酶 *ATGL* 和 *HSL* 对肝脏和脂肪组织中的脂解至关重要。*ATGL* 是 TAG 水解、生成 DAG 和脂肪酸的第一步的限速酶, 而 *HSL* 负

责随后 DAG 的降解, 生成 MAG 和脂肪酸^[31]。在本研究中, *ATGL* 主要在大菱鲆肝脏中表达, 这与大黄鱼组织表达结果相似^[32]。*MGLL* 与 *HSL* 有着协同作用, 将脂肪细胞和其他细胞内储存的 TAG 水解为甘油和脂肪酸, *MGLL* 还可以补充脂蛋白脂肪酶, 水解脂蛋白 TAG 降解产生的单甘酯^[33]。*MGLL* 主要在大菱鲆的脑中表达, *HSL* 主要在眼和脂肪组织中表达, 这与红鳍东方鲀组织表达结果相似^[4]。但是在矛尾复虾虎鱼^[23]中, *HSL* 主要在肠中表达。组织特异性表达的差异表明, 不同动物之间可能存在不同的脂质代谢机制^[32]。*DAGLα* 主要催化具有不同长脂肪酰基链的 MAG 的“按需”生物合成^[34]。大脑中 *DAGLα* 的高表达证明了其在大菱鲆脑中的特殊功能, 而且 *DAGL* 还可生物合成 2-花生四烯酸甘油、2-亚油酸甘油、2-油酸甘油和 2-棕榈酰甘油, 这对中枢神经系统的神经调节很重要^[34]。

PL 主要由胰腺腺泡细胞分泌, 并在十二指肠中起消化脂肪的作用^[35]。*PL* 主要在大菱鲆的脾脏

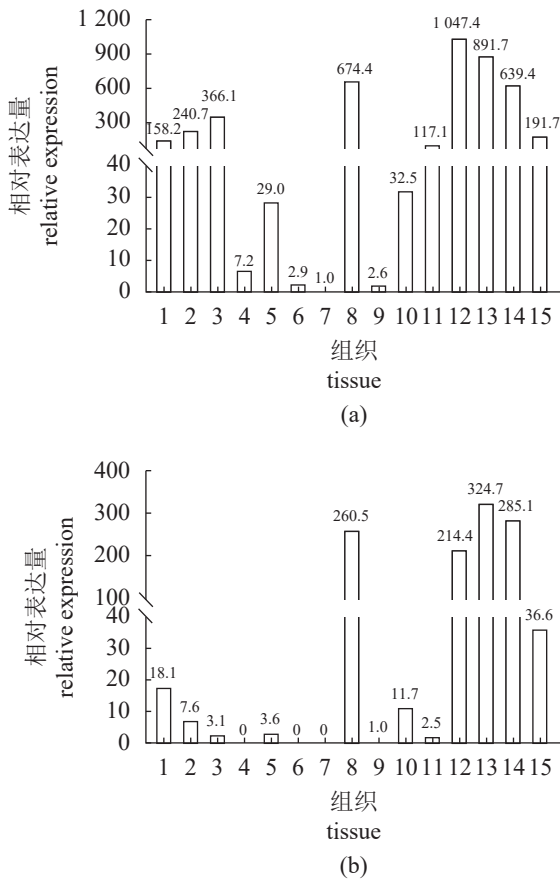


图 8 大菱鲆胆汁酸和胆固醇代谢相关基因的组织分布

Fig. 8 Tissue distribution of genes related to bile acid and cholesterol metabolism in *S. maximus*

(a) *HMF-CoAr*, (b) *CYP7A1*.

和肠道中表达, 可能在脂肪的消化方面起着重要作用。*BSAL* 具有广泛的底物特异性, 不仅参与肠道内三酰甘油的消化, 还可参与脂溶性维生素酯和胆固醇酯的消化^[36]。*BSAL* 在大菱鲆的肠道和脾脏中高度表达, 表明这种酶可能在这些组织中合成, 然后分泌到消化道进行 *TAG* 消化。

HL 和 *LPL* 是参与脂肪降解的关键酶^[37]。*LPL* 水解血浆脂蛋白中存在的三酰甘油, 并提供游离脂肪酸, 用于脂肪组织中的储存或在其他组织中的 β 氧化, 在调节鱼体内脂质含量方面起着关键作用^[38]。*HL* 属于与血液循环中内源性 *TAG* 代谢有关的酶之一, 与 *LPL* 在功能上有相似之处, 然而却是两种不同性质的酶, *HL* 主要作用于小颗粒脂蛋白, 调节胆固醇从周围组织转运到肝脏^[39]。在本研究中, *LPL* 在肝脏中的表达占主导地位, 这与虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*) 和真鲷 (*Pagrus major*) 中的报告类似^[40-41], 表明 *LPL* 基因主要表达在对

脂肪酸 β 氧化或储存有高脂质需求的组织中^[23]。*HL* 也主要在大菱鲆肝脏中表达, 可能与肝脏中胆固醇代谢调节有关。

关于载脂蛋白, 其基因表达的组织分布与其功能高度相关。载脂蛋白 *ApoA1* 是血浆高密度脂蛋白 (HDL) 的主要载脂蛋白, 是磷脂和游离胆固醇的优先受体^[42]。*ApoA4* 主要作用于肠道脂质吸收^[16]。*ApoB100* 是低密度脂蛋白 (LDL) 和极低密度脂蛋白 (VLDL) 的主要蛋白质成分^[43]。*ApoEa* 可以通过与不同细胞受体的相互作用, 介导胆固醇和脂质的运输和摄取^[44]。在本研究中, 载脂蛋白主要在大菱鲆肝脏和肠道中表达, 这与中华鲟 (*Acipenser sinensis*)^[45]、塞内加尔鳎 (*Solea Senegalensis*)^[46]、金头鲷 (*Sparus aurata*)^[47] 和石斑鱼 (*Epinephelus* sp.)^[48] 的结果相似。大多数载脂蛋白基因在肠道和肝脏中高表达, 可能与脂蛋白将肠道中吸收的脂质运输到肝脏储存或代谢的功能有关。

胆固醇的生物合成由反馈机制控制, 关键酶是 *HMG-CoAr*^[49], 在大菱鲆的肠道和肝脏中高表达。胆汁酸在脂肪消化和脂肪吸收方面有着不可替代的作用^[50], *CYP7A1* 是胆汁酸合成的第一限速酶, 对肝脏中胆汁酸的合成至关重要^[51]。在哺乳动物中, *CYP7A1* 仅在肝脏中表达^[52-53]。在大菱鲆中, 主要在肠道和肝脏中表达, 这与虹鳟的组织表达结果相似^[51], 说明这些组织可能与胆汁酸合成及其肠肝循环有关^[54]。

PPARa 存在两个亚型, 即 *PPARa1* 和 *PPARa2*, 二者功能多样化, *PPARa1* 主要参与脂肪的生成, *PPARa2* 主要参与脂肪酸的 β 氧化^[55]。在哺乳动物中, *PPARa* 主要在脂质代谢活跃的组织中表达, 如肝脏、心脏和肌肉^[56]。在鱼类中, 矛尾复虾虎鱼^[23]、拟庸鲽 (*Pleuronectes platessa*) 和金头鲷^[57] 中的 *PPARa* 也在肝脏和心脏中高表达, 但在褐鲟 (*S. trutta*) 中, *PPARa* 主要在肌肉中表达^[58]。在本研究中, *PPARa1* 主要在大菱鲆的肠道和胃中表达, *PPARa2* 主要在心脏中表达。*PPARa* 是一种配体激活的转录因子, 可以与相应的反应元件结合以激活脂肪酸 β 氧化中的靶基因。因此, 推测 *PPARa2* 在心脏脂质代谢过程中可能发挥关键作用。

迄今为止, *PPARb* 在鱼类中的作用尚不清楚, 该基因在大菱鲆所有组织中的表达量均较低。一项关于长鳍篮子鱼 (*Siganus canaliculatus*) 的研究表明, 鳃具有最高的 *PPARb* 表达^[59]。在红鳍东方鲀中, *PPARb* 在眼睛、心脏和脑中具有相对高的

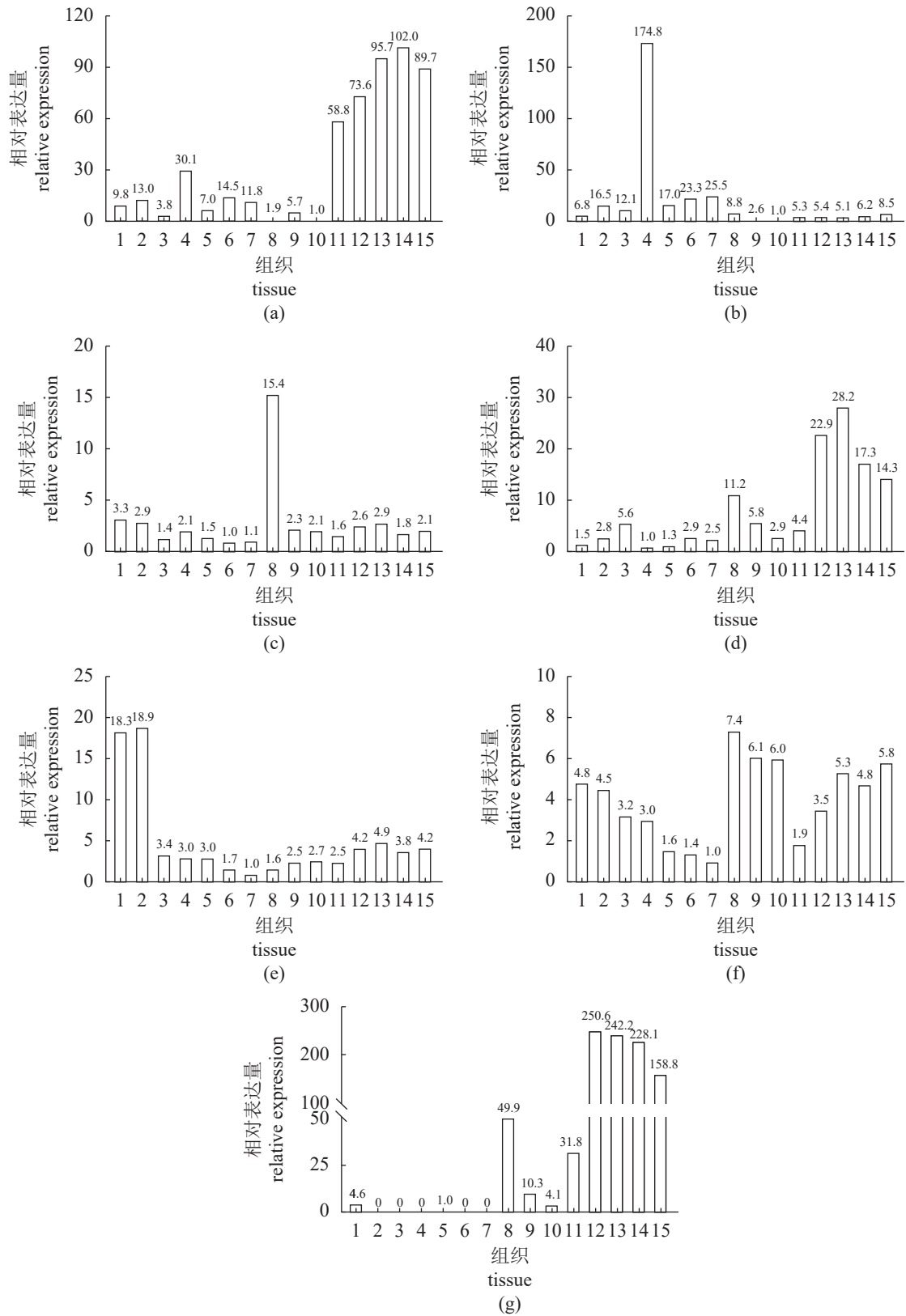


图9 大菱鲆脂代谢相关转录因子的组织分布

Fig. 9 Tissue distribution of transcription factors related to lipid metabolism in *S. maximus*

(a) *PPARα1*, (b) *PPARα2*, (c) *PPARβ*, (d) *PPARγ*, (e) *SREBP1*, (f) *LXR-α*, (g) *HNF4α*.

表达^[4]。本研究结果显示, *PPAR β* 在大菱鲆的肝脏中表达量较高, 推测可能是 *PPAR β* 参与了某些特定脂肪酸的代谢。

PPAR γ 可以控制脂肪组织中脂质的储存及脂肪组织的分化^[60-61]。在大菱鲆中, *PPAR γ* 主要表达在肠道和肝脏中, 与红鳍东方鲀^[4] 以及长鳍篮子鱼^[59] 实验中观察到的情况类似。有研究报告称, 脂肪组织和肝脏是 *PPAR γ* 表达的主要部位^[57-62], 这表明 *PPAR γ* 可能在控制鱼类这些组织的脂质代谢和储存功能中起着关键作用。

SREBP-1 是一种膜结合转录因子, 调节脂肪生成基因如 *FAS* 和 *ACAC* 的表达, 是测定脂肪生成能力的指标基因之一^[63]。在矛尾复虾虎鱼^[23] 和黄颡鱼^[24] 中, *SREBP-1* 主要在肝脏中表达, 但在本研究中, *SREBP-1* 主要在眼和脑中特异性表达, *SREBP-1* 可能在这些组织的脂肪生成调节中起重要作用。

LXR α 在调节胆固醇稳态中起着重要作用, 通过泛素化脂蛋白受体调节胆固醇的摄取^[64]。在本研究中, *LXR α* 主要在大菱鲆的肝脏、肾脏和脾脏中表达, 在红鳍东方鲀^[4] 和虹鳟^[65] 中, *LXR α* 主要在脾脏表达, 表明该基因可能参与鱼类健康调节。

HNF4 α 参与碳水化合物代谢, 是糖异生速率控制酶磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶 (*PEPCK*) 的主要调节蛋白^[66]。*HNF4 α* 也在大菱鲆的肠道和肝脏中高表达, 说明大菱鲆的肠道和肝脏可能是碳水化合物代谢的主要场所, 而碳水化合物能以多种方式与脂质代谢产生相互作用^[67]。

综上所述, 本实验详细研究了 29 个脂代谢关键基因在大菱鲆体内的组织表达情况, 为研究大菱鲆脂代谢特征及探索不同储脂类型鱼类中脂肪代谢的多样性提供了基础数据。

(作者声明本文无实际或潜在的利益冲突)

参考文献 (References):

- [1] Tocher D R. Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish[J]. *Reviews in Fisheries Science*, 2003, 11(2): 107-184.
- [2] Sheridan M A. Lipid dynamics in fish: aspects of absorption, transportation, deposition and mobilization[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part B: Comparative Biochemistry*, 1988, 90(4): 679-690.
- [3] Welte M A. Expanding roles for lipid droplets[J]. *Current Biology*, 2015, 25(11): R470-R481.
- [4] Xu H G, Meng X X, Jia L L, *et al.* Tissue distribution of transcription for 29 lipid metabolism-related genes in *Takifugu rubripes*, a marine teleost storing lipid predominantly in liver[J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2020, 46(4): 1603-1619.
- [5] Collewet G, Bugeon J, Idier J, *et al.* Rapid quantification of muscle fat content and subcutaneous adipose tissue in fish using MRI[J]. *Food Chemistry*, 2013, 138(2-3): 2008-2015.
- [6] Toussaint C, Fauconneau B, Médale F, *et al.* Description of the heterogeneity of lipid distribution in the flesh of brown trout (*Salmo trutta*) by MR imaging[J]. *Aquaculture*, 2005, 243(1-4): 255-267.
- [7] Wu J L, Zhang J L, Du X X, *et al.* Evaluation of the distribution of adipose tissues in fish using magnetic resonance imaging (MRI)[J]. *Aquaculture*, 2015, 448: 112-122.
- [8] Khieokhajonkhet A, Kaneko G, Ohara K, *et al.* Hormone-sensitive lipase in Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*: the potential function of the inclinor muscle of fin as a lipid storage site[J]. *Fisheries Science*, 2014, 80(2): 341-351.
- [9] 杨沛, 李彦先, 胡海滨, 等. 氯化钴在大菱鲆饲料中的安全性评价[J]. 上海海洋大学学报, 2014, 23(4): 535-545.
- Yang P, Li Y X, Hu H B, *et al.* Safety evaluation of dietary cobalt dichloride in turbot[J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2014, 23(4): 535-545 (in Chinese).
- [10] Wang Q A, Tao C, Gupta R K, *et al.* Tracking adipogenesis during white adipose tissue development, expansion and regeneration[J]. *Nature Medicine*, 2013, 19(10): 1338-1344.
- [11] 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.
- [12] Tiku P E, Gracey A Y, Macartney A I, *et al.* Cold-induced expression of Δ^9 -desaturase in carp by transcriptional and posttranslational mechanisms[J]. *Science*, 1996, 271(5250): 815-818.
- [13] Torrejon C, Jung U J, Deckelbaum R J. n-3 Fatty acids and cardiovascular disease: actions and molecular mechanisms[J]. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 2007, 77(5-6): 319-326.

- [14] Tocher D R, Fonseca-Madrigal J, Bell J G, *et al.* Effects of diets containing linseed oil on fatty acid desaturation and oxidation in hepatocytes and intestinal enterocytes in Atlantic salmon (*Salmo salar*)[J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2002, 26(2): 157-170.
- [15] Geay F, Culi E S I, Corporeau C, *et al.* Regulation of FADS2 expression and activity in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.) fed a vegetable diet[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 2010, 156(4): 237-243.
- [16] Kamalam B S, Panserat S, Aguirre P, *et al.* Selection for high muscle fat in rainbow trout induces potentially higher chylomicron synthesis and PUFA biosynthesis in the intestine[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 2013, 164(2): 417-427.
- [17] Betancor M B, Sprague M, Sayanova O, *et al.* Evaluation of a high-EPA oil from transgenic *Camelina sativa* in feeds for Atlantic salmon (*Salmo salar* L.): Effects on tissue fatty acid composition, histology and gene expression[J]. *Aquaculture*, 2015, 444: 1-12.
- [18] Tocher D R, Zheng X Z, Schlechtriem C, *et al.* Highly unsaturated fatty acid synthesis in marine fish: cloning, functional characterization, and nutritional regulation of fatty acyl $\Delta 6$ desaturase of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.)[J]. *Lipids*, 2006, 41(11): 1003-1016.
- [19] Xu H, Zhang D L, Yu D H, *et al.* Molecular cloning and expression analysis of *scd1* gene from large yellow croaker *Larimichthys crocea* under cold stress[J]. *Gene*, 2015, 568(1): 100-108.
- [20] Pierron F, Baudrimont M, Bossy A, *et al.* Impairment of lipid storage by cadmium in the European eel (*Anguilla anguilla*)[J]. *Aquatic Toxicology*, 2007, 81(3): 304-311.
- [21] 付兵, 郁二蒙, 王广军, 等. 投喂蚕豆对草鱼肝脏脂肪蓄积及脂肪代谢的影响[J]. *上海海洋大学学报*, 2020, 29(1): 45-54.
- Fu B, Yu E M, Wang G J, *et al.* Effects of feeding broad bean on fat accumulation and metabolism in grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) liver[J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2020, 29(1): 45-54 (in Chinese).
- [22] Kerner J, Hoppel C. Fatty acid import into mitochondria[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*, 2000, 1486(1): 1-17.
- [23] Chen Q L, Luo Z, Huang C, *et al.* Molecular cloning and tissue mRNA levels of 15 genes involved in lipid metabolism in *Synechogobius hasta*[J]. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 2015, 117(4): 471-482.
- [24] Zheng J L, Luo Z, Zhu Q L, *et al.* Molecular cloning and expression pattern of 11 genes involved in lipid metabolism in yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco*[J]. *Gene*, 2013, 531(1): 53-63.
- [25] McGarry J D, Brown N F. The mitochondrial carnitine palmitoyltransferase system—from concept to molecular analysis[J]. *European Journal of Biochemistry*, 1997, 244(1): 1-14.
- [26] Oaxaca-Castillo D, Andreoletti P, Vluggens A, *et al.* Biochemical characterization of two functional human liver acyl-CoA oxidase isoforms 1a and 1b encoded by a single gene[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2007, 360(2): 314-319.
- [27] Crockett E L, Sidell B D. Substrate selectivities differ for hepatic mitochondrial and peroxisomal β -oxidation in an Antarctic fish, *Notothenia gibberifrons*[J]. *Biochemical Journal*, 1993, 289(2): 427-433.
- [28] Tocher D R, Fonseca-Madrigal J, Dick J R, *et al.* Effects of water temperature and diets containing palm oil on fatty acid desaturation and oxidation in hepatocytes and intestinal enterocytes of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 2004, 137(1): 49-63.
- [29] 魏琦琦, 赵广, 何潇, 等. 油茶2个甘油-3-磷酸酰基转移酶基因的克隆与组织表达特异性分析[J]. *植物生理学报*, 2016, 52(7): 1099-1109.
- Wei Q Q, Zhao G, He X, *et al.* Cloning and expression analysis of two glycerol-3-phosphate acyltransferase (GPAT) genes in oil-tea tree (*Camellia oleifera*)[J]. *Plant Physiology Journal*, 2016, 52(7): 1099-1109 (in Chinese).
- [30] Coleman R A, Lee D P. Enzymes of triacylglycerol synthesis and their regulation[J]. *Progress in Lipid Research*, 2004, 43(2): 134-176.
- [31] Stringer D M, Zahradka P, DeClercq V C, *et al.* Modulation of lipid droplet size and lipid droplet proteins by *trans*-10, *cis*-12 conjugated linoleic acid parallels improvements in hepatic steatosis in obese, insulin-resistant rats[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-*

- Molecular and Cell Biology of Lipids*, 2010, 1801(12): 1375-1385.
- [32] Wang X X, Wang Y Z, Li Y J. Adipose triglyceride lipase (ATGL) clone, expression pattern, and regulation by different lipid sources and lipid levels in large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea* R.)[J]. *Marine Biotechnology*, 2013, 15(2): 197-205.
- [33] Karlsson M, Reue K, Xia Y R, *et al.* Exon-intron organization and chromosomal localization of the mouse monoglyceride lipase gene[J]. *Gene*, 2001, 272(1-2): 11-18.
- [34] Yuan D J, Wu Z D, Wang Y H. Evolution of the diacylglycerol lipases[J]. *Progress in Lipid Research*, 2016, 64: 85-97.
- [35] 喻冰君, 李年双, 何丛, 等. 胰脂肪酶家族在急性胰腺炎和肥胖疾病中的研究进展[J]. *中华胰腺病杂志*, 2021, 21(2): 156-159.
- Yu B J, Li N S, He C, *et al.* Research progress of pancreatic lipase family in acute pancreatitis and obesity[J]. *Chinese Journal of Pancreatology*, 2021, 21(2): 156-159 (in Chinese).
- [36] Wang C S, Dashti A, Downs D. Bile salt-activated lipase[M]//Doolittle M, Reue K. Lipase and phospholipase protocols. Totowa: Humana Press, 1999: 71-79.
- [37] 何吉祥, 潘庭双, 蒋阳阳, 等. 饲料糖蛋白质比和投喂率对异育银鲫生长及脂质代谢指标的影响[J]. *上海海洋大学学报*, 2016, 25(2): 198-206.
- He J X, Pan T S, Jiang Y Y, *et al.* Effects of dietary carbohydrate to protein ratios and feeding rate on growth and lipid metabolism index of *Carassius auratus gibelio*[J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2016, 25(2): 198-206 (in Chinese).
- [38] Nilsson-Ehle P, Garfinkel A S, Schotz M C. Lipolytic enzymes and plasma lipoprotein metabolism[J]. *Annual Review of Biochemistry*, 1980, 49: 667-693.
- [39] 丁雪芬. 鱼类脂蛋白脂酶 (LPL) 和肝脂酶 (HL) 基因及其分子进化研究 [D]. 广州: 暨南大学, 2007.
- Ding X F. Molecular characterization and evolutionary analysis of lipoprotein lipase (LPL) and hepatic lipase (HL) gene in fishes[D]. Guangzhou: Jinan University, 2007 (in Chinese).
- [40] Lindberg A, Olivecrona G. Lipoprotein lipase from rainbow trout differs in several respects from the enzyme in mammals[J]. *Gene*, 2002, 292(1-2): 213-223.
- [41] Oku H, Koizumi N, Okumura T, *et al.* Molecular characterization of lipoprotein lipase, hepatic lipase and pancreatic lipase genes: Effects of fasting and refeeding on their gene expression in red sea bream *Pagrus major*[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 2006, 145(2): 168-178.
- [42] Wang H, Du J H, Lu S, *et al.* Regulation of intestinal apolipoprotein A-I synthesis by dietary phosphatidylcholine in newborn swine[J]. *Lipids*, 2001, 36(7): 683-687.
- [43] Chapman M J. [3] Comparative analysis of mammalian plasma lipoproteins[J]. *Methods in Enzymology*, 1986, 128: 70-143.
- [44] Gee J R, Ding Q X, Keller J N. Modulation of apolipoprotein E and interleukin-1 β in the aging liver[J]. *Experimental Gerontology*, 2005, 40(5): 409-415.
- [45] Li C J, Gan F, Chen X H, *et al.* Molecular and expression analysis of apolipoprotein E gene in the Chinese sturgeon, *Acipenser sinensis*[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 2011, 158(1): 64-70.
- [46] Roman-Padilla J, Rodríguez-Rúa A, Claros M G, *et al.* Genomic characterization and expression analysis of four apolipoprotein A-IV paralogs in Senegalese sole (*Solea senegalensis* Kaup)[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 2016, 191: 84-98.
- [47] Llewellyn L, Ramsurn V P, Wigham T, *et al.* Cloning, characterisation and expression of the apolipoprotein A-I gene in the sea bream (*Sparus aurata*)[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Gene Structure and Expression*, 1998, 1442(2-3): 399-404.
- [48] Wei J G, Gao P, Zhang P, *et al.* Isolation and function analysis of apolipoprotein A-I gene response to virus infection in grouper[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2015, 43(2): 396-404.
- [49] Whiteleather J E, Gardner J E. Acute pulmonary edema resulting from intravenous saline[J]. *The Journal of the Tennessee State Medical Association. Tennessee State Medical Association*, 1947, 40(10): 326-329.
- [50] 毕清竹, 梁萌青, 廖章斌, 等. 饲料中胆汁酸对红鳍东方鲀脂肪酸组成及抗氧化能力的影响[J]. *上海海洋大学学报*, 2020, 29(6): 829-839.

- Bi Q Z, Liang M Q, Liao Z B, *et al.* Effect of dietary bile acid supplementation on fatty acid composition and anti-oxidative capacity of tiger puffer *Takifugu rubripes*[J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2020, 29(6): 829-839 (in Chinese).
- [51] Murashita K, Yoshiura Y, Chisada S I, *et al.* Postprandial response and tissue distribution of the bile acid synthesis-related genes, *cyp7a1*, *cyp8b1* and *shp*, in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 2013, 166(2): 361-369.
- [52] Agellon L B, Drover V A B, Cheema S K, *et al.* Dietary cholesterol fails to stimulate the human cholesterol 7 α -hydroxylase gene (*CYP7A1*) in transgenic mice[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2002, 277(23): 20131-20134.
- [53] Wu Z L, Martin K O, Javitt N B, *et al.* Structure and functions of human oxysterol 7 α -hydroxylase cDNAs and gene *CYP7B1*[J]. *Journal of Lipid Research*, 1999, 40(12): 2195-2203.
- [54] Russell D W. The enzymes, regulation, and genetics of bile acid synthesis[J]. *Annual Review of Biochemistry*, 2003, 72(1): 137-174.
- [55] Dong X J, Xu H G, Mai K, *et al.* Cloning and characterization of SREBP-1 and PPAR- α in Japanese seabass *Lateolabrax japonicus*, and their gene expressions in response to different dietary fatty acid profiles[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 2015, 180: 48-56.
- [56] Braissant O, Fougère F, Scotto C, *et al.* Differential expression of peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs): tissue distribution of PPAR- α , - β , and - γ in the adult rat[J]. *Endocrinology*, 1996, 137(1): 354-366.
- [57] Leaver M J, Boukouvala E, Antonopoulou E, *et al.* Three peroxisome proliferator-activated receptor isotypes from each of two species of marine fish[J]. *Endocrinology*, 2005, 146(7): 3150-3162.
- [58] Batista-Pinto C, Rodrigues P, Rocha E, *et al.* Identification and organ expression of peroxisome proliferator activated receptors in brown trout (*Salmo trutta* f. *fario*)[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Gene Structure and Expression*, 2005, 1731(2): 88-94.
- [59] You C H, Jiang D L, Zhang Q H, *et al.* Cloning and expression characterization of peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) with their agonists, dietary lipids, and ambient salinity in rabbitfish *Siganus canaliculatus*[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 2017, 206: 54-64.
- [60] Walczak R, Tontonoz P. PPARadigms and PPARadoxes: expanding roles for PPAR γ in the control of lipid metabolism[J]. *Journal of Lipid Research*, 2002, 43(2): 177-186.
- [61] Hummasti S, Tontonoz P. The peroxisome proliferator-activated receptor N-terminal domain controls isotype-selective gene expression and adipogenesis[J]. *Molecular Endocrinology*, 2006, 20(6): 1261-1275.
- [62] Boukouvala E, Antonopoulou E, Favre-Krey L, *et al.* Molecular characterization of three peroxisome proliferator-activated receptors from the sea bass (*Dicentrarchus labrax*)[J]. *Lipids*, 2004, 39(11): 1085-1092.
- [63] Eberlé D, Hegarty B, Bossard P, *et al.* SREBP transcription factors: master regulators of lipid homeostasis[J]. *Biochimie*, 2004, 86(11): 839-848.
- [64] Hu Y W, Zheng L, Wang Q. Regulation of cholesterol homeostasis by liver X receptors[J]. *Clinica Chimica Acta*, 2010, 411(9-10): 617-625.
- [65] Zhu T F, Corraze G, Plagnes-Juan E, *et al.* Cholesterol metabolism regulation mediated by SREBP-2, LXRA and miR-33a in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) both *in vivo* and *in vitro*[J]. *PLoS One*, 2020, 15(2): e0223813.
- [66] Hayhurst G P, Lee Y H, Lambert G, *et al.* Hepatocyte nuclear factor 4 α (nuclear receptor 2A1) is essential for maintenance of hepatic gene expression and lipid homeostasis[J]. *Molecular and Cellular Biology*, 2001, 21(4): 1393-1403.
- [67] Wang B K, Liu W B, Xu C, *et al.* Dietary carbohydrate levels and lipid sources modulate the growth performance, fatty acid profiles and intermediary metabolism of blunt snout bream *Megalobrama amblycephala* in an interactive pattern[J]. *Aquaculture*, 2017, 481: 140-153.

Tissue distribution of transcription for 29 lipid metabolism-related genes in turbot (*Scophthalmus maximus*)

LIU Guoxu^{1,2}, MENG Xiaoxue^{1,2}, MA Qiang², WEI Yuliang², LIANG Mengqing², XU Houguo^{2*}

(1. College of Fisheries and Life Sciences, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

2. Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China)

Abstract: The distribution patterns of adipose tissue in different fish species are highly diverse. Turbot (*Scophthalmus maximus*) has a special lipid storage pattern, storing lipid predominantly in the subcutaneous tissue around the fin. In order to better understand the lipid physiology of fish storing lipid in subcutaneous tissue, this study preliminarily investigated the tissue distribution of 29 lipid metabolism-related genes in *S. maximus*, which are involved in lipogenesis, fatty acid oxidation, biosynthesis and hydrolysis of glycerides, lipid transport, and relevant transcription regulation. Fifteen tissue samples including eye, gill, brain, skin, muscle, liver, stomach, kidney, spleen, heart, foregut, pyloric caeca, hindgut, caecum and subcutaneous adipose tissue around the fin were collected from 30 fish for qRT-PCR analysis (10 fish as a replicate pool). In the PCR experiment, *EF1 α* and *RPL13* were used as the reference genes. The amplification efficiency for all primers, which was estimated by standard curves based on dilution series of target template, was within 95%-105%, and the coefficients of linear regression (R^2) were >0.99. A quantitative thermal cycler (Roche LightCycler 96, Basel, Switzerland) was used for the real-time qPCR, and the reaction system and program followed the formal procedures in our laboratory. Each sample was run in triplicate. The mRNA levels were expressed according to the $2^{-\Delta\Delta C_t}$ method. For each gene, the mRNA level in the tissue with the lowest expression was standardized to be 1.0, and the gene expression levels of other tissues were expressed as folds of 1.0. The results showed that the intestine and brain had high transcription of lipogenic genes such as *ACAC β* , *FAS* and *SCD1*, whereas the liver and muscle had low expression levels of these genes. The intestine also had the highest transcription levels of most apolipoproteins such as *ApoA1*, *ApoA4*, *ApoB100*, and *ApoE α* and lipid metabolism-related transcription factors such as *PPAR α 1*, *PPAR γ* , *SREBP1*, *LXR- α* , and *HNF4 α* . The transcription of fatty acid β oxidation-related genes, *ACOX1*, *ACOX3*, and *CPT1*, was low in the muscle. The intracellular glyceridases, *HSL*, *DAGL α* , and *MGLL*, were highly transcribed in the brain, eye, and heart. In conclusion, in *S. maximus*, the intestine may not only be the place for lipid uptake, but also an important lipogenic organ in *S. maximus*. The lipid metabolism in the subcutaneous adipose tissue of *S. maximus* is not active, which may be due to the fact that the subcutaneous tissue is the main organ for lipid storage in *S. maximus*. This study will help to further elucidate the regulation of lipid metabolism in fish at the molecular level.

Key words: *Scophthalmus maximus*; tissue distribution of gene expression; lipid metabolism; lipid storage pattern; fish intestine function

Corresponding author: XU Houguo. E-mail: xuhg@ysfri.ac.cn

Funding projects: Central Public-interest Scientific Institution Basal Research Fund, YSFRI, CAFS (20603022022004, 2020TD48)