

绵羊肌肉 LPL 基因表达的发育性变化 及其对肌肉脂肪含量的影响

乔永¹, 黄治国^{1,2}, 李齐发¹, 刘振山¹, 代蓉³, 谢庄¹, 郝称莉¹, 刘红林¹

(¹南京农业大学动物科技学院, 南京 210095; ²四川理工学院生物工程系, 自贡 643000; ³新疆农垦科学院畜牧兽医研究所, 石河子 832001)

摘要:【目的】研究绵羊肌肉中脂蛋白脂酶 (lipoprotein lipase, LPL) 基因 mRNA 的发育性变化规律及其对肌肉脂肪沉积的影响。【方法】选取 2、30、60、90 和 120 日龄的雄性哈萨克羊和新疆细毛羊各 6 只 (120 日龄只有新疆细毛羊), 屠宰后取背最长肌检测肌肉脂肪含量, 用荧光实时定量 PCR 法检测肌肉 LPL 基因 mRNA 表达水平, 分析在不同时期的变化及其与肌肉脂肪含量的关系。【结果】随着日龄的增加, 雄性哈萨克羊的 IMF (Intramuscular Fat) 含量持续上升, 各生长时期差异显著 ($P < 0.05$), 而新疆细毛羊的 IMF 含量在各生长时期无显著差异 ($P > 0.05$), 雄性哈萨克羊的 IMF 含量 30~90 d 期间极显著高于新疆细毛羊 ($P < 0.01$); 雄性哈萨克羊肌肉 LPL 基因的表达量在 2 日龄时最高, 60 日龄时降到最低, 然后逐渐上升, 2 日龄时 LPL 表达量极显著高于其它日龄 ($P < 0.01$)。新疆细毛羊的表达量在 2 日龄时较低, 30 日龄时升到最高, 随后下降, 到 90 日龄时降到最低, 然后又逐渐上升; 30 日龄表达量与 2、90、120 日龄差异极显著 ($P < 0.01$), 与 60 日龄差异显著 ($P < 0.05$); 60 日龄表达量与 2、90、120 日龄差异显著 ($P < 0.05$); 哈萨克羊 LPL 基因 2~60 日龄的表达量与 IMF 含量呈负相关, 相关系数为 -0.625 ($P < 0.05$); 新疆细毛羊 IMF 含量与 LPL 基因表达量无显著相关性。【结论】新疆细毛羊和哈萨克羊背最长肌肌肉脂肪沉积的发育性变化不同, 在生长发育早期, 哈萨克羊随日龄的增加其 IMF 上升, 新疆细毛羊在各时期保持一个稳定的水平; LPL 基因在哈萨克羊生长早期对其肌肉脂肪的沉积可能有负调控作用, 而对新疆细毛羊无明显作用。

关键词: 绵羊; 肌肉脂肪; 脂蛋白脂酶; 荧光实时定量 PCR

Developmental Changes of the LPL mRNA Expression and the Effect on IMF Content in Sheep Muscle

QIAO Yong¹, HUANG Zhi-guo^{1,2}, LI Qi-fa¹, LIU Zhen-shan¹, DAI Rong³, XIE Zhuang¹,
HAO Cheng-li¹, LIU Hong-lin¹

(¹College of Animal Science and Technology, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095; ²Sichuan University of Science and Engineering, Zigong 643000; ³Xinjiang Reclamation Science Institute, Shihezi 832001)

Abstract: 【Objective】The objectives of this study were to investigate the developmental changes of the Lipoprotein lipase (LPL) mRNA level in sheep muscle and its effect on intramuscular fat (IMF) accumulation. 【Method】Male Kazak and Xinjiang merino sheep at 2 to 120 days old were selected to investigate the developmental changes of lipoprotein lipase mRNA expression and its effect on intramuscular fat content in muscle. Six animals of each breed were slaughtered at 2, 30, 60, 90 and 120 days (only the Xinjiang merinos at 120 days old were available) to collect samples from *longissimus dorsi* muscle. This was done for the purpose of determining the IMF content and extracting total RNA for investigating the developmental changes of the LPL mRNA expression by real-time PCR. 【Result】In male Kazak sheep, the IMF content increased with the progress of development. There were significant differences ($P < 0.05$) between the age groups. However, there were no differences ($P > 0.05$) between age groups in Xinjiang

收稿日期: 2006-05-31; 接受日期: 2006-11-05

基金项目: 国家自然科学基金 (30671503)

作者简介: 乔永 (1981-), 男, 陕西旬邑人, 硕士研究生, 研究方向为动物分子数量遗传学。Tel: 025-84395046; Fax: 025-84395314, 13971460133; E-mail: qiaoyongniu@163.com。通讯作者李齐发 (1975-), 男, 河南固始人, 博士, 研究方向为动物分子数量遗传学。Tel: 025-84395046; Fax: 025-84395314; E-mail: liqifa@njau.edu.cn。谢庄 (1947-), 男, 江苏无锡人, 教授, 研究方向为动物分子数量遗传学和生物信息学。Tel: 025-84395046; Fax: 025-84395314; E-mail: zxie@njau.edu.cn

merinos. The IMF content of the male Kazak sheep was significantly higher ($P < 0.01$) than that of the Xinjiang merinos aged from 30 to 90 days. LPL mRNA expression was the highest at day 2 and it was significantly higher than that of all other age groups ($P < 0.01$), while animals at 60 days old had the lowest LPL mRNA expression in the male Kazak sheep. In Xinjiang merino sheep, the LPL mRNA was the highest at 30 days old ($P < 0.01$), followed by a continuous decrease down to the lowest level at 90 days old, then it slightly increased. In male Kazak sheep at 2 to 60 days old, the LPL mRNA expression was negatively correlated to the IMF content ($\gamma = -0.625$, $P < 0.05$), however, no such relationship was detected in the male Xinjiang merinos. 【Conclusion】 There were different models of IMF accumulation in male Kazak and Xinjiang merino sheep, the IMF content increased with the age increasing in Kazak sheep and had not significantly changed in Xinjiang merinos in the early development stage; LPL maybe have a negative effect on IMF accumulation in Kazak sheep at early stages.

Key words: Sheep; Intramuscular fat; Lipoprotein lipase; Real time PCR

0 引言

【研究意义】畜禽肉是人类营养物质的重要来源。随着生活水平的提高,消费者对肉品的需求逐渐由数量转向质量。因此,改善肉质、生产优质畜产品就成为现代畜禽生产和育种工作的主要任务之一。科学家越来越关注脂肪对肉品质量的作用,一方面,人们希望动物有更低的脂肪含量,这是由于动物用于脂肪生成所需的能量要高于肌肉生成,需要更高的成本,而且脂肪的增加使人们更加担心随之而来的健康问题;另一方面,人们又需要动物有较高的肌肉脂肪来提高肉品质量,从而提高产品的价格^[1]。【前人研究进展】肌肉脂肪含量(intramuscular fat, IMF)是影响肉质风味、嫩度^[2]和多汁性等的重要因素之一^[3,4],适量的IMF能改善肉品质。但表型相关分析结果表明,背膘厚度与肌肉脂肪含量常呈正相关,采用传统的育种方法难以选育到背膘薄而IMF高的品系。因此利用分子生物学方法,筛选影响IMF含量的主效基因和遗传标记是解决此问题的重要途径^[5]。近年来,畜禽脂肪性状相关基因的研究已成为动物遗传育种研究的热点,但绵羊肌肉脂肪和相关基因的相关研究较少。脂蛋白脂酶(lipoprotein lipase, LPL)是动物机体内甘油三酯(TG)降解为甘油和游离脂肪酸反应的限速酶^[6],它参与各种脂蛋白的代谢并对其进行调控,使血浆中富含脂质的脂蛋白降解,因此与机体的脂质代谢及肥胖密切相关^[7]。另外,LPL在前脂肪细胞向成熟脂肪细胞分化的过程中对脂肪酸代谢有重要作用^[8,9],尤其是在肌肉脂肪合成时控制脂肪和肌肉中TG的分配,控制肌肉脂肪的沉积和代谢^[10-13]。LPL的表达具有组织特异性,主要分布在脂肪组织、心肌和骨骼肌中,机体内各组织的LPL对机体脂质代谢的作用各不相同,激素、禁食、补饲和高脂日粮等都可调控LPL mRNA的特异性表达^[6,14,15]。Hocquette等^[11]研究发

现,在牛的各种组织中,LPL基因转录活性与其蛋白活性成正相关,且LPL活性影响牛肉的肌肉脂肪含量和肉品质量。因此,LPL可以作为影响肌肉脂肪沉积的一个重要遗传标记,研究其表达水平对肌肉脂肪沉积的影响具有重要的意义。【本研究切入点】LPL对脂肪沉积具有重要作用,前人对各种动物脂肪组织中LPL的基因表达规律和蛋白活性变化作了大量的研究^[16-19],发现在不同动物的脂肪组织中,LPL的表达调控模式各不相同,受多种因素影响和调节。LPL基因在动物肌肉中的表达发育性变化及其对肌肉脂肪含量影响的报道相对较少^[20,21]。【拟解决的关键问题】本研究以肉脂兼用的哈萨克羊和毛用的新疆细毛羊为研究对象,利用荧光实时定量PCR技术检测绵羊肌肉LPL基因表达的发育性变化,以及对IMF含量的影响,为绵羊育种提供参考资料。

1 材料与方 法

1.1 试验动物

选取新疆维吾尔自治区石河子市紫泥泉种羊场2、30、60、90和120 d的雄性哈萨克羊和新疆细毛羊各6只(120 d的只有新疆细毛羊),共54只羊,屠宰后采取背最长肌,一部分立即置于液氮中速冻,-70℃保存,用于RT-PCR;一部分保存于-20℃,用于测定IMF含量。

1.2 主要试剂和仪器

MMLV反转录酶购自美国Promega公司,Taq DNA聚合酶、EXTaq HS DNA聚合酶和pMD18-T Simple Vector购自大连TaKaRa公司,Opticon荧光实时定量PCR仪为美国MJ公司产品。

1.3 IMF含量测定

用索氏抽提法测定IMF含量^[22]。

1.4 引物设计与合成

以持家基因3-磷酸甘油醛脱氢酶(glyceraldehyde

-3-phosphate dehydrogease, GAPDH) 为内参^[22]。从 GenBank 检索绵羊 LPL 和 GAPDH mRNA 序列, 用

Primer Premier 5.0 软件设计引物 (表 1), 由大连宝生物合成。

表 1 扩增 LPL 和 GAPDH 基因的引物参数

Table 1 Parameters of oligo-nucleotide primer pairs used for amplification of the LPL and GAPDH

目的基因 Target gene	cDNA 参考序列 cDNA sequence	引物序列 Primer sequence	预期产物大小 Expected size of PCR product	退火温度(°C) Annealing temperature
LPL	GenBank X68308	F: 5'-GTCATCGTGGTGGACTGG-3' R: 5'-TGGAAAGTGCCTCCGTTA-3'	398 bp (509-906)	54
GAPDH	GenBank AF030943	F: 5'-ACTTTGGCATCGTGGAGG-3' R: 5'-GAAGAGTGAGTGTCTGCTGTTG-3'	379 bp (364-742)	58

1.5 RNA 提取和反转录

用硫氰酸胍-酚-氯仿 RNA 一步提取法提取肌肉总 RNA^[23], 紫外分光光度计测定总 RNA 浓度和纯度 ($OD_{260}/OD_{280}=1.8\sim 2.0$)。

用随机引物对总 RNA 进行反转录 (reverse transcription, RT), 反应体系为 25 μ l: 2 μ g 总 RNA, 1 μ g 随机引物, 0.4 mmol·L⁻¹ dNTP, 20U Rnasin, 200U MMLV 反转录酶, 5 μ l 5 \times RT Buffer (含 250 mmol·L⁻¹ Tris-HCl pH 8.3, 50 mmol·L⁻¹ MgCl₂, 250 mmol·L⁻¹ Cl, 50 mmol·L⁻¹ DTT, 2.5 mmol·L⁻¹ Spermidine)。反应程序: 先加 RNA 模板, dNTP 和随机引物, 70 $^{\circ}$ C 变性 5 min 后立即放冰上冷却, 再加其余试剂, 混匀后 37 $^{\circ}$ C 反应 60 min, 95 $^{\circ}$ C 灭活 5 min。RT 产物保存于 -20 $^{\circ}$ C 备用。

1.6 PCR 反应

反应体系为 10 μ l: 0.5 μ l RT 产物, 1 U Taq DNA 聚合酶, 1 μ l 10 \times PCR Buffer, 0.25 mmol·L⁻¹ dNTP, 1.25 mmol·L⁻¹MgCl₂, 0.5 μ mol·L⁻¹上游和下游引物。反应程序: 94 $^{\circ}$ C 预变性 3 min, PCR 循环, 94 $^{\circ}$ C 30s, 退火 30 s, 72 $^{\circ}$ C 30 s, 一共 40 个循环, 最后再 72 $^{\circ}$ C 延伸 5 min。PCR 产物用 8% 聚丙烯酰胺凝胶电泳分离, 银染后用凝胶成像系统照相。

1.7 PCR 产物回收及克隆测序

每个样品选取 20 个进行克隆。PCR 产物用 1% 琼脂糖凝胶电泳分离, 紫外灯下割取目的片段, 用 V-gene DNA 凝胶回收试剂盒纯化。回收的 DNA 片段与 pMD18-T Simple Vector 载体连接, 并转化 JM109 菌株。挑取阳性克隆, 用 V-gene 质粒 DNA 提取试剂盒提取质粒, PCR 鉴定后, 送上海英骏生物技术有限公司测序。

1.8 荧光实时定量 PCR

每个样品做两个重复, 用克隆有目的片段的质粒梯度稀释后作为标准品, 制作标准曲线。反应体系为

20 μ l: 1 μ l RT 产物, 1 U EX Taq HS DNA 聚合酶, 4 μ l 5 \times PCR Buffer, 0.3 mmol·L⁻¹dNTP, 3.75 mmol·L⁻¹ MgCl, 0.5 μ mol·L⁻¹目的基因上游和下游引物, 1 μ l 20 \times SYBR green I。反应程序为: 95 $^{\circ}$ C 预变性 1 min; PCR 循环, 95 $^{\circ}$ C 10 s, 退火 10 s, 72 $^{\circ}$ C 15 s, 读板 (Plate Read), 一共 45 个循环; 然后再 72 $^{\circ}$ C 延伸 5 min; 进行熔解曲线分析: 65~94 $^{\circ}$ C, 每隔 0.2 $^{\circ}$ C 读板一次, 温度恒定 1 s 后读板; 最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 5 min。

1.9 数据分析

试验结果表示为 $\bar{x}\pm Sd$, 用 SPSS11.5 For Windows 软件进行数据分析。其中同一品种不同生长时期 IMF 及基因表达量的差异用 One-way ANOVA 进行分析; 同一生长时期不同品种间 IMF 及基因表达量的差异用 Independent-samples Test 进行分析; 基因的表达量与 IMF 含量的相关用 Bivariate Correlations 进行分析。

2 结果与分析

2.1 绵羊背最长肌的 IMF 含量 (%)

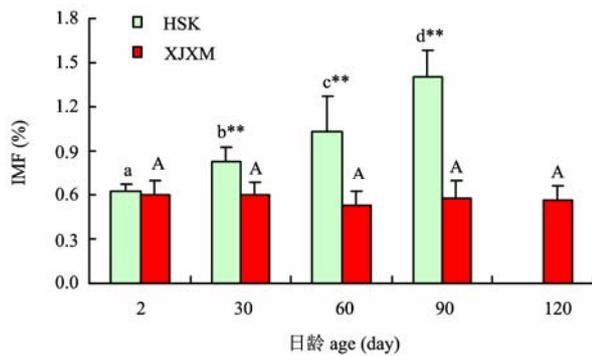
随着日龄的增加, 雄性哈萨克羊背最长肌的 IMF 含量持续上升, 各生长时期的 IMF 含量差异显著 ($P<0.05$); 雄性新疆细毛羊各生长时期的 IMF 无显著差异 ($P>0.05$); 雄性哈萨克羊的 IMF 含量在 30~90 d 期间极显著高于新疆细毛羊 (图 1)。

2.2 绵羊 LPL 和 GAPDH 基因 RT-PCR 扩增结果

以绵羊肌肉总 RNA 为模板, 用所设计的 LPL 和 GAPDH 引物分别进行 RT-PCR 扩增, PCR 产物经 8% 聚丙烯酰胺凝胶电泳, 分别获得 398 bp 和 379 bp 的条带 (图 2)。

2.3 绵羊 LPL 和 GAPDH 基因克隆质粒测序结果

LPL 和 GAPDH 基因的扩增片段克隆于 pMD18-T Vector, PCR 鉴定 (图 3) 后测序, 用 DNASTAR 对测



HSK: 哈萨克羊; JXM: 新疆细毛羊。品种内不同日龄间的差异用字母表示 (哈萨克羊: 小写字母; 新疆细毛羊: 大写字母), 没有相同字母的表示差异显著 ($P < 0.05$); **表示同日龄品种间差异极显著 ($P < 0.01$)。下同

HSK: male Kazak sheep; XJXM: male Xinjiang merino sheep. Means without a common letter (the capital letter for male Xinjiang Merino and the small letter for male Kazak sheep) differ significantly between age groups ($P < 0.05$); ** indicates significant difference at $P < 0.01$ between breeds at the same age. The same as below

图1 雄性哈萨克羊和新疆细毛羊的 IMF 含量

Fig. 1 IMF content of male Kazak and Xinjiang merino sheep

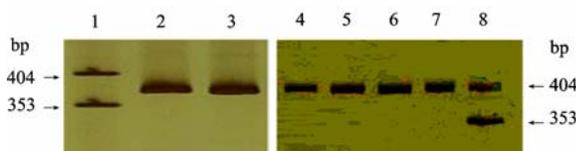


图2 绵羊肌肉 GAPDH 和 LPL 基因的 RT-PCR 电泳图

Fig. 2 RT-PCR of GAPDH and LPL mRNA of sheep muscle

序结果与引物设计源序列进行同源性比较, 结果发现: LPL 基因的 547 位有一个 A→T 单碱基突变, 804 位有一个 A 碱基缺失, 869 位有一个 T→A 单碱基突变, 899 位有一个 C→A 单碱基突变, 与引物设计源序列的同源性为 99%; GAPDH 基因扩增片段的序列与引物设计源序列完全相同, 同源性为 100%。表明 PCR 扩增片段为特异的 LPL 和 GAPDH cDNA。

2.4 绵羊肌肉 LPL 基因表达的发育性变化

用荧光实时定量 PCR 法对雄性哈萨克羊和新疆细毛羊肌肉 LPL 基因的表达进行了定量 (图4)。结果表明, 两品种绵羊肌肉 LPL 基因表达的发育性变化模式不同, 雄性哈萨克羊的表达量在 2 d 时最高, 然后逐渐下降, 到 60 d 时降到最低, 随后又有所回升, 2 d 和其它各日龄间差异极显著 ($P < 0.01$), 其它各

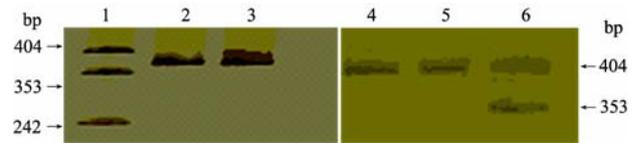


图3 绵羊 LPL 和 GAPDH 基因克隆质粒 PCR 电泳图

Fig. 3 PCR of LPL-pMD18-T and GAPDH-pMD18-T

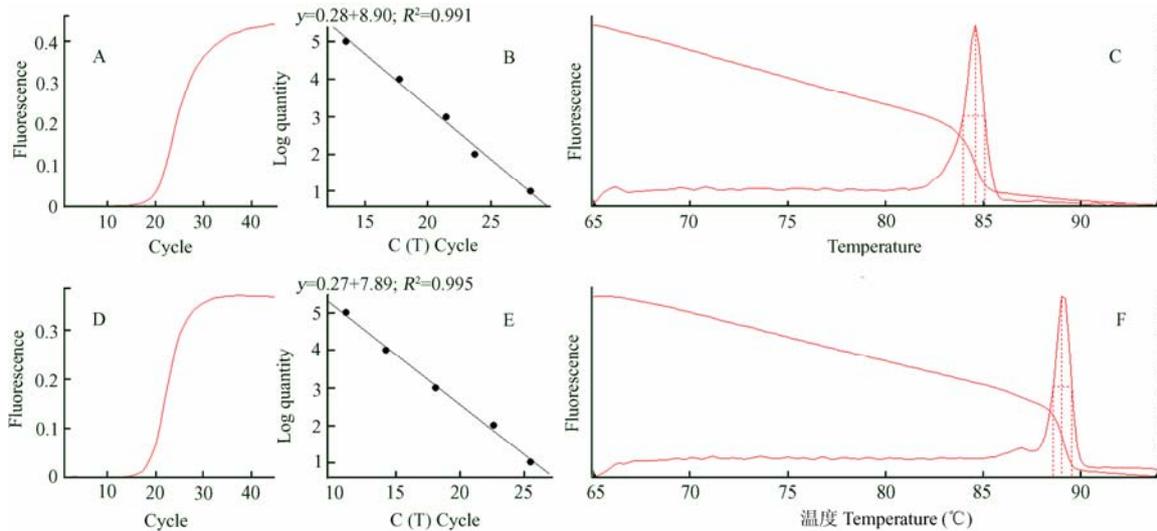
日龄间无显著差异 ($P > 0.05$)。新疆细毛羊的表达量在 2 d 时较低, 然后持续上升, 在 30 d 时达到最高, 随后持续下降, 到 90 d 时降到最低, 到 120 d 时又逐渐上升。30 d 时表达量分别与 2、90 和 120 d 间差异极显著 ($P < 0.01$), 与 60 d 表达量差异显著 ($P < 0.05$); 60 d 与 2、90 和 120 d 有显著差异 ($P < 0.05$)。在 30 和 60 d 时, 新疆细毛羊肌肉 LPL 基因的表达量极显著高于哈萨克羊 ($P < 0.01$), 2 d 时新疆细毛羊低于哈萨克羊 ($P < 0.05$), 90 d 时两者之间无显著性差异 ($P > 0.05$)。

2.5 哈萨克羊肌肉 LPL 基因的表达与 IMF 含量的相关分析

对哈萨克羊肌肉 LPL 基因的表达与 IMF 含量的相关分析表明: LPL 基因的表达量在 2~60 d 期间与 IMF 含量呈负相关, 相关系数为 -0.625 ($P < 0.05$); 新疆细毛羊 LPL 基因表达量与 IMF 含量无显著的相关性 ($P > 0.05$)。

3 讨论

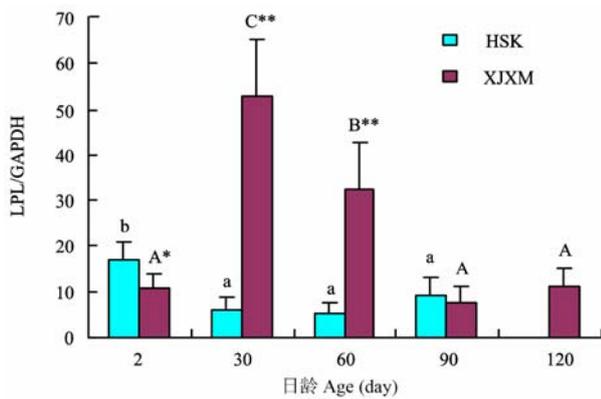
高勤学等^[24]研究发现, 二花脸猪在生长发育早期肌肉脂肪沉积明显不同于大约克猪, 二花脸猪肌肉脂肪随日龄的增加呈上升趋势, 而大约克猪在整个生长期肌肉脂肪含量保持在一个稳定的水平。本研究发现, 随着日龄的增加, 雄性哈萨克羊背最长肌的 IMF 含量持续上升, 而新疆细毛羊的 IMF 含量几乎没有变化。表明哈萨克羊在生长发育早期, 肌肉就已经开始蓄积 IMF 了, 而新疆细毛羊在 120 d 以前还没有开始蓄积 IMF, 说明肌肉脂肪的沉积在不同品种羊中表现很大差异, 这与在猪肌肉脂肪沉积的研究上相似^[24]。肌肉脂肪的沉积规律和机制现在尚不清楚, 但脂肪组织的发育生长无非是脂肪细胞数目或大小或者两者共同的增加发展的结果^[25]。Anderson 等^[26]认为, 猪脂肪组织的生长在前两个月主要是脂肪细胞数目的增加, 在 2~5



A: LPL 基因的扩增曲线; B: LPL 基因的标准曲线; C: LPL 基因的熔解曲线; D: GAPDH 基因的扩增曲线; E: GAPDH 基因的标准曲线; F: GAPDH 基因的熔解曲线
A and D, B and E, and C and F represent the amplifications, standard and melting curves of the LPL GAPDH genes, respectively

图 4 LPL 及 GAPDH 基因的扩增曲线、标准曲线和熔解曲线

Fig. 4 The amplification, standard and melting curve of LPL and GAPDH genes



*表示同日龄品种间差异显著($P < 0.05$)
*indicates difference at $P < 0.05$ between breeds at the same age

图 5 雄性哈萨克羊和新疆细毛羊肌肉 LPL 基因表达的发育性变化

Fig. 5 Developmental changes of LPL mRNA expression in male Kazak and Xinjiang merino sheep muscle

月龄是脂肪细胞数目增加和脂肪细胞体积增大共存，以后的发育主要为脂肪细胞体积的增大。所以本研究发现在不同品种绵羊上肌肉脂肪沉积的不同也可能与脂肪细胞的发育分化模式有关。

LPL 在动物脂肪细胞分化、成熟以及在控制脂肪

和肌肉中 TG 的分配中起着重要的作用^[8]。Hartman^[17]认为 LPL 是决定脂肪细胞大小的一个重要因子，且在肥胖人群各组织中 LPL 活性普遍比较高。Waylan 等^[10]研究发现，添加了亚麻籽饲喂的育肥期肉牛肌肉中 LPL 表达比不添加组的肉牛低 312%，认为在添加了亚麻籽后，肉牛肌肉对能量的需要已经满足，所以 LPL 会在脂肪中表达增加，从而将脂肪酸转化成肌肉脂肪存储。Bonnet 等^[27]对成年牛的短期催肥试验表明，催肥 3 周的牛肌肉中 LPL 蛋白活性明显增强，但 mRNA 水平没有明显改变；Faulconnier 等^[6]对绵羊进行类似的试验，结果与此相似，表明 LPL 发挥作用可能主要是在转录后蛋白质活性水平上来实现的，与其 mRNA 转录水平关系不大。LPL 基因的表达调控在肌肉和脂肪组织中有很大的差异，在大鼠的研究上发现甚至是完全相反的^[27]。Bonnet 等^[21]对绵羊禁饲 7 d 后，发现心肌中 LPL mRNA 水平明显下降；接着补饲 21 d 后，mRNA 水平又明显的回升。在脂肪组织变化趋势中与心肌一致，但变化水平更明显。另外，他们还在肌肉和脂肪检测到两种不同长度的 mRNA，两种 mRNA 在肌肉和脂肪组织中的比例完全不同。LPL 的表达调节是非常复杂的，可能发生在转录、翻译或翻译后修饰各个水平^[28]。Ranganathan 等^[29]发现，LPL 基因在人体不同的组织中的转录后翻译机制不同，人 LPL

cDNA 有一个长 3'-UTR, 包含两个不同的 poly-A 信号, 脂肪和肌肉中 LPL mRNA 通过不同的剪切方式实现翻译水平的调控。在人的脂肪组织中, LPL mRNA 3'-UTR 的前 24 个核苷酸对其剪切有重要作用, 因为此区域包含抑制翻译的蛋白质结合结构域^[30]。表明 LPL 基因发挥作用的一个重要调控点就是在转录后通过不同的 mRNA 剪切来实现的。绵羊的 LPL 基因已经被成功定位于 2 号染色体上, 它有一个单一的开放阅读框, 编码 450 个氨基酸, 同其它已知物种的 LPL 序列相比, 蛋白质序列和 DNA 5'-UTR 序列高度保守^[31]。在绵羊脂肪组织中, 因为 LPL mRNA 3'-UTR 的剪切位置不同而形成 3 种大小不同的 mRNA^[32], 并且在心肌和脂肪组织中 LPL mRNA 的大小不同, 表明在绵羊不同组织中 LPL 表达的转录后剪切是其调节的一个重要方面。对于绵羊肌肉中的 LPL mRNA 的结构和剪切机制现在尚未见报道, 需要进一步的研究, 以揭示其表达规律和机制。

高勤学等发现^[24]LPL mRNA 表达与二花脸肌内脂发育趋势在生长早期相吻合, 而在后期 LPL 表达量下降, 肌内脂肪含量上升, 认为生长早期, 肌肉组织中肌肉和脂肪都在不断生长, 由于两者的生长势不一致, 早期是肌肉的快速生长和脂肪细胞数目的增加, 所以 LPL 表达量高, 在生长后期, 脂肪的沉积主要是脂肪细胞肥大和脂肪滴的充盈, 而细胞数未有明显增加, 脂肪相关基因的相对浓度下降, 转录本在总 RNA 中的相对比例下降, 因此表现为转录水平的迅速下降, 这与本研究在哈萨克羊肌肉中发现的结果一致, LPL mRNA 随年龄的增加呈下降趋势。鼠类、人、单胃动物肌肉中 LPL 基因表达的研究较多, 但在反刍动物中的研究, 特别是对反刍动物肌肉 LPL 基因表达的报道较少。本研究发现, 肌肉 LPL 基因表达量在哈萨克羊出生时最高 ($P<0.01$), 新疆细毛羊在 1 月龄时最高 ($P<0.01$), 然后两品种基因表达的变化模式基本一致, 即逐渐下降, 然后又逐渐上升。这与 Semenkovich 在鼠上的研究结果不同^[14], LPL mRNA 水平在鼠脂肪组织中出生时最高, 而在肌肉中是出生后随年龄增加的, 到 13 d 后才下降, 表明在不同物种 LPL 表达的发育性机制也不相同。绵羊的这种发育性变化模式和肌内脂肪的沉积模式在两品种间不同, 在哈萨克羊生长早期 LPL 基因 mRNA 水平和肌内脂肪沉积甚至呈负相关, 提示绵羊肌肉中 LPL 的调控作用也可能不是在 mRNA 表达水平上, 而有可能是转录后的翻译水平和蛋白质的活性水平上。本研究未检测肌肉中 LPL 蛋

白质水平的发育性变化, 所以 LPL 对绵羊肌内脂肪沉积的影响还需在蛋白质水平上作进一步的研究。

4 结 论

新疆细毛羊和哈萨克羊背最长肌肌内脂肪沉积的发育性变化不同, 哈萨克羊随日龄的增加其 IMF 上升, 新疆细毛羊在各时期保持一个稳定的水平。LPL 基因 mRNA 水平在哈萨克羊背最长肌中刚出生时最高, 然后随日龄的增加而下降, 到 90 d 时有所回升; 新疆细毛羊背最长肌 LPL mRNA 水平在刚出生时较低, 30d 时达到最高, 然后随日龄增加而下降, 到 120 d 时有所回升。哈萨克羊 LPL 基因 2~60 d 的表达量与 IMF 含量呈负相关, 相关系数为 -0.625 ($P<0.05$), LPL 表达可以作为影响哈萨克羊肌内脂肪沉积的一个遗传标记来进行辅助选育。

References

- [1] Novakofski J. Adipogenesis: Usefulness of *in vitro* and *in vivo* experiment models. *Journal of Animal Science*, 2004, 82: 905-915.
- [2] Hodgson R R, Davis G W, Smith G C, Savell J W, Cross H R. Relationships between pork loin palatability traits and physical characteristics of cooked chops. *Journal of Animal Science*, 1991, 69: 4858-4865.
- [3] Wang Y H, Byrne K A, Reverter A, Harper G S, Taniguchi M, McWilliam S M, Mannen H, Oyama K, Lehnert S A. Transcriptional profiling of skeletal muscle tissue from two breeds of cattle. *Mammalian Genome*, 2005, 16: 201-210.
- [4] Huang Z G, Xiong L, Liu Z S, Qiao Y, Liu S R, Ren H X, Xie Z, Liu G Q, Li X B. The development changes and effect on IMF content of H-FABP and PPAR mRNA expression in sheep muscle. *Acta Genetica Sinica*, 2006, 33(6): 507-514.
- [5] 徐宁迎, 赵兴波, 蒋思文. 猪鸡肉质性状分子标记及主效基因的研究进展. *中国畜牧杂志*, 2004, 4: 42-44.
Xu N Y, Zhao X B, Jiang S W. Advances in molecular genetic marker and major genes of meat quality traits for pig and chicken. *Chinese Journal of Animal Science*, 2004, 40(4): 42-44. (in Chinese)
- [6] Faulconnier Y, Bonnet M, Bocquier F, Leroux C, Chilliard Y. Effects of photoperiod and feeding level on adipose tissue and muscle lipoprotein lipase activity and mRNA level in dry non-pregnant sheep. *British Journal of Nutrition*, 2001, 85: 299-306.
- [7] 单体中, 汪以真, 李 民. 猪脂蛋白脂酶基因片段的克隆及不同体重的表达差异. *农业生物技术学报*, 2006, 14: 151-155.
Shan T Z, Wang Y Z, Li M. Cloning of lipoprotein lipase (LPL) gene

- of swine and the difference of LPL gene expression at different avoirdupois stages. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2006, 14(2): 151-155. (in Chinese)
- [8] Sorisky A. From preadipocyte to adipocyte: differentiation-directed signals of insulin from the cell surface to the nucleus(Abstract). *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, 1999, 36: 1-34.
- [9] Boone C, Mourot J, Gregoire F, Remaclé C. The adipose conversion process: regulation by extracellular and intracellular factors. *Reproduction Nutrition Development*, 2000, 40: 325-358.
- [10] Waylan A T, Dunn J D, Johnson B J, Kayser J P, Sissiom E K. Effect of flax supplementation and growth promotants on lipoprotein lipase and glycogenin messenger RNA concentrations in finishing cattle. *Journal of Animal Science*, 2004, 82: 1868-1876.
- [11] Hocquette J F, Graulet B, Olivecrona T. Lipoprotein lipase activity and RNA levels in bovine tissues(Abstract). *Comparative Biochemistry Physiology*, 1998, 121(2): 201-212.
- [12] Ong J M, Simsolo R B, Saghizadeh M, Pauer A, Kern P A. Expression of lipoprotein lipase in rat muscle: regulation by feeding and hypothyroidism. *Journal of Lipid Research*, 1994, 35: 1542-1551.
- [13] Kern P A. Potential role of TNF α and lipoprotein lipase as candidate genes for obesity. *American Society for Nutritional Sciences*, 1997, 127: 1917-1922.
- [14] Semenkovich C F, Chen S H, Wims M, Luo C C, Li W H, Chan L. Lipoprotein lipase and hepatic lipase mRNA tissue specific expression, development regulations and evolution. *Journal of Lipid Research*, 1989, 30: 423-431.
- [15] 吕林, 计成, 罗绪刚, 刘彬, 余顺祥. 锰对肉仔鸡胴体性能、肉质及相关酶活性的影响. *中国农业科学*, 2004, 37: 1917-1924.
- LÜ L, Ji C, Luo X G, Liu B, Yu S X. Effect of supplemental manganese on carcass traits, meat quality, and relative enzyme activities in broilers. *Scientia Agricultura Sinica*, 2004, 37: 1917-1924. (in Chinese)
- [16] Ren M Q, Wegner J, Bellmann O, Brockmann G A, Schneider F, Teuscher F, Ender K. Comparing mRNA levels of genes encoding leptin, leptin receptor, and lipoprotein lipase between dairy and beef cattle. *Domestic Animal Endocrinology*, 2002, 23: 371-381.
- [17] Zou X T, Lü J J. Effect of betaine on the regulation of the lipid metabolism in Laying hen. *Agricultural Sciences in China*, 2002, 1(9): 1043-1049.
- [18] Lee S H, Hossner K L. Coordinate regulation of ovine adipose tissue gene expression by propionate. *Journal of Animal Science*, 2002, 80: 2840-2849.
- [19] Liang X F, Ogata H Y, Oku H. Effect of dietary fatty acids on lipoprotein lipase gene expression in the liver and visceral adipose tissue of fed and starved red bream *Pagrus major*. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part A*: 2002, 132: 913-919.
- [20] Sanja L F, Rader H, Walsh A, Stollberger R, Sattler W, Kipping G, Weinstock P H, Breslow J L, Zechner R. Muscle-specific overexpression of lipoprotein lipase causes a severe myopathy characterized by proliferation of mitochondria and peroxisomes in transgenic mice. *The Journal of Clinical Investigation*, 1995, 96: 976-986.
- [21] Muriel B, Leroux C, Faulconnier Y, Hocquette J F, Bocquier F, Martin P, Chilliard Y. Lipoprotein lipase activity and mRNA are up-regulated by refeeding in adipose tissue and cardiac muscle of sheep. *American Society for Nutritional Sciences*, 2000, 130: 749-790.
- [22] 李文娟, 李宏宾, 文杰, 陈继兰, 赵桂苹, 郑麦青. 鸡 H-FABP 和 A-FABP 基因表达与肌肉脂肪含量相关研究. *畜牧兽医学报*, 2006, 37: 417-442.
- Li W J, Li H B, Wen J, Chen J L, Zhao G P, Zheng M Q. Association of the H-FABP and A-FABP gene expression with intramuscular fat content in chickens. *Acta Veterinariae Zootechnica Sinica*, 2006, 37: 417-442. (in Chinese)
- [23] Ding S T, Schinckel A P, Weber T E, Mersmann H J. Expression of porcine transcription factors and genes related to fatty acid metabolism in different tissues and genetic populations. *Journal of Animal Science*, 2000, 78: 2127-2134.
- [24] 高勤学, 李俊, 刘红林, 王林云, 徐银学. 二花脸猪与大约克猪生长期肌肉脂肪合成与水结基因表达特征的比较研究. *遗传学报*, 2004, 31: 1218-1225.
- Gao Q X, Li J, Liu H L, Wang L Y, Xu Y X. Comparative study on lipogenic and lipolytic gene expression in intramuscular fat tissue between growing erhualian and large white pigs. *Acta Genetica Sinica*, 2004, 31: 1218-1225. (in Chinese)
- [25] Cianzio D S, Topel D G, Whitehurst G B, Beitz D C, Self H L. Adipose tissue growth and cellularity changes in bovine adipocyte size and number. *Journal of Animal Science*, 1985, 60: 970-976. (Abstract).
- [26] Anderson D B, Kauffman R G. Cellular and enzymatic changes in porcine adipose tissue during growth. *Journal of Lipid Research*, 1973, 14: 160-168.
- [27] Bonnet M, Faulconnier Y, Hocquette J F, Bocquier F, Leroux C, Martin P, Chilliard Y. Nutritional status induces divergent variations of GLUT4 protein content, but not lipoprotein lipase activity, between adipose tissues and muscles in adult cattle. *British Journal of Nutrition*, 2004, 92: 617-625.
- [28] Zhang J Q, Smith B, Langdon M M, Messimem H L, Sun A Y, Cox R H, Marilyn J K, Thoms T R. Changes in LPL α and reverse cholesterol transport variables during 24 h postexercise period. *American Journal of Physiological Endocrinology Metabolism*, 2002, 283: 267-274.
- [29] Ranganathan G, Ong J M, Yukht A, Saghizadeh M, Simsolo R B, Pauer A, Kern P A. Tissue-specific expression of human lipoprotein

- lipase: Effect of the 3'-untranslated region on translation. *The Journal of Biological Chemistry*, 1995, 270: 7149-7155.
- [30] Ranganathan G, Vu D, Kern P A. Translational regulation of lipoprotein lipase by epinephrine involves a trans-acting binding protein interacting with the 3'untranslated region. *The Journal of Biological Chemistry*, 1997, 272: 2515-2519.
- [31] 郑麦青, 曹红鹤, 李宏滨, 文杰. 脂蛋白脂酶基因的研究进展. *国外畜牧科技*, 2001, 2: 27-31.
- Zheng M Q, Cao H H, Li H B, Wen J. The current research situation of lipoprotein lipase(LPL) gene. *Animal Science Abroad*, 2001, 2: 27-31. (in Chinese)
- [32] Bonnet M, Leroux C, Chilliard Y, Martin P. Rapid communication: Nucleotide sequence of the ovine lipoprotein lipase cDNA. *Journal of Animal Science*, 2000, 78: 2994-2995.

(责任编辑 高雨)

2008 年中国畜牧兽医学会期刊编辑学分会联合征订目录

期刊名称	邮发代号	刊期	年定价 (元)	编辑部地址	邮编	联系电话	联系人	E-mail	CN 号
畜牧与兽医	28-42	月刊	57.60	江苏省南京市卫岗 1 号南京农业大学内	210095	025-84395701	黄克 陈雯	muyizz@njau.edu.cn	CN32-1192/S
中国养兔	28-85	双月刊	30.00	南京市草场门大街 124 号	210036	025-86263458	娄志荣	zgyt82@126.com	CN32-1321/S
粮食与饲料工业	38-151	月刊	60.00	武汉市卓刀泉南路 3 号	430079	027-874061388	苏幔	lssylgy@public.wh.hb.cn	CN42-1176/TS
农村实用技术与信息	38-185	月刊	22.80	武汉华中农业大学	430070	027-62290508	李江南	hnyzszs@126.com	CN42-1359/S
肉类工业	自办发行	月刊	60.00	武汉市江岸路 12 号	430011	027-82319036	袁永红	rlgy@ifood1.com	CN42-1134/TS
养殖与饲料	38-381	月刊	45.60	武汉市洪山区华中农业大学校内	430070	027-87287369	何大庆	yzcl@mail.hzau.edu.cn	CN42-1648/S
湖北畜牧兽医	38-352	月刊	48.00	武汉市武昌南湖瑶苑 2 号湖北省农科院内	430064	027-87389001	周和平	hbxm87389001@163.com	CN42-1349/S
畜禽业	62-184	月刊	66.00	四川省成都市人民南路 4 段 53 号嘉云台乙 8A	610041	028-85252331	王黔	xqyzs@163.com	CN51-1508/S
四川畜牧兽医	62-43	月刊	60.00	四川成都市武侯祠大街 4 号附 1 号	610041	028-85554305	段诚中	scxmsy@sina.com.cn	CN51-1181/S
家畜生态学	52-112	双月刊	36.00	陕西杨凌西北农林科技大学动物科技学院	712100	029-87091130	唐西蕙	jcost@x263.net	CN61-1433/S
中国牛业科学 (黄牛杂志)	52-113	双月刊	60.00	陕西杨凌西北农林科技大学	712100	029-87091423	张琪	huanng2002813@yahoo.com.cn	CN61-1449/S
动物医学进展	52-60	月刊	120.00	陕西杨凌西北农林科技大学动物科技学院	712100	029-87092574	黄建文	djyzyilan@263.net	CN61-1007/S
畜牧兽医杂志	52-56	双月刊	42.00	陕西杨凌西北农林科技大学	712100	029-87092806	刘炳琪	bq-11@163.com	CN61-1085/S
饲料科技	自办发行	月刊		河北石家庄市翟营南大街 385 号	050031	0311-85880833	李菲	siliaoqiji@vip.sina.com	
北方牧业	18-323	半月刊	76.80	河北石家庄市翟营南大街 385 号	050031	0311-85890596	武艳丽	djl829@sohu.com	CN13-1338/S
山西农业·畜牧兽医	22-317	月刊	54.00	太原市迎泽大街 312 号	030001	0351-4080460	赵富良	sxxmsy@126.com	CN14-1207/S
河南畜牧兽医 (综合版)	36-193	月刊	72.00	河南省郑州市经三路 91 号	450008	0371-65778792	瞿富根	hnxmsy@163.com	CN41-1175/S
河南畜牧兽医 (市场版)	36-193	月刊	72.00	河南省郑州市经三路 91 号	450008	0371-65778792	瞿富根	hnxmsy@163.com	CN41-1175/S
经济动物学报	自办发行	季刊	24.00	吉林省长春市吉林农业大学	130118	0431-4533130	刘桂荣	jjdwx@163.com	CN22-1258/S
吉林畜牧兽医	12-75	月刊	72.00	吉林省长春市西安大路 4558 号	130062	0431-86814288	尹宁	zhubian@sina100.com	CN22-1104/S
中国兽医学报	12-105	月刊	60.00	吉林省长春市西安大路 5333 号	130062	0431-7836531	李毓义	xbcjvs@163.com	CN22-1234/R
饲料博览(技术版)	14-184	月刊	60.00	黑龙江省哈尔滨市香坊区东北农业大学内	150030	0451-55190639	崔哲	slbl@vip.163.com	CN23-1298/S
饲料博览(管理版)	自办发行	月刊	60.00	黑龙江省哈尔滨市香坊区东北农业大学内	150030	0451-55190639	倪树森	slbl@vip.163.com	CN23-1298/S
黑龙江畜牧兽医	14-28	月刊	120.00	哈尔滨市南岗区宣西小区 70 栋	150008	0451-82365922-809	李杰	hljxmsy@163.com	CN23-1205/S
中国预防兽医学报	14-70	月刊	120.00	哈尔滨市南岗区马端街 427 号	150001	0451-85935050	张兆军	zgyfsyxb@vip.sina.com	CN23-1417/S
畜牧兽医科技信息	14-48	月刊	96.00	哈尔滨市南岗区马端街 427 号	150001	0451-85935051	秦红丽	xmsyjkxx2004@sohu.com	CN23-1501/S
黑龙江动物繁殖	14-264	双月刊	30.00	哈尔滨市哈平路 243 号	150069	0451-86644242	李洋	hljdwfz@163.com	CN23-1350/S
养殖技术顾问	14-304	月刊	67.20	哈尔滨市道外区红旗大街 518 号	150050	0451-86823517	王俊伟	info@yxwww.com.cn	CN23-1476/S
东北饲料信息	14-18	半月刊	150.00	哈尔滨市南岗区宣化街 412 号恒润家园 A 栋 603 室	150009	0451-87525892	周顺来	dbslxx@public.hr.hl.cn	CN23-1514/S
当代畜禽养殖业	16-49	月刊	78.00	内蒙古呼和浩特市鄂尔多斯西街内蒙古畜牧科学院	010030	0471-6652236	李杰	nmgxmy@sina.com	CN15-1150/S
畜牧与饲料科学	16-101	双月刊	48.00	呼和浩特市鄂尔多斯路内蒙古畜牧科学院	010030	0471-3958171	贾淑萍	cnmxky@vip.163.com	CN15-1228/S
中国禽业导刊	28-153	半月刊	134.40	江苏省扬州市桑园路 46 号	225003	0514-7220645	杨恒东	qydk@263.net	CN32-1489/S
中国家禽	28-87	半月刊	120.00	江苏省扬州市桑园路 46 号	225003	0514-7232606	吴荣富	zgjzqz@263.net	CN32-1222/S
水禽科学	24-51	双月刊	27.00	山东省济南市交校路 1 号	250023	0531-85990243	王爱琴	shuiqin2006@163.com	CN37-1424/S
家禽科学	24-146	月刊	54.00	山东省济南市交校路 1 号	250023	0531-85990243	殷若新	jqkxzz@263.net	CN37-1424/S
齐鲁牧业报	自办发行	周刊	60.00	山东省济南市槐村街 68 号	250022	0531-87198020	颜增华	yzhyh@163.com	
中国动物检疫	24-112	月刊	60.00	青岛市南京路 369 号中国动物卫生与流行病学中心	266032	0532-85642906	王伟涛	cjaq@public.qd.sd.cn	CN37-1246/S
山东畜牧兽医	自办发行	双月刊	18.00	山东省泰安市山东农业大学转	271018	0538-8242644	徐作良	xmxh@sdau.edu.cn	CN37-1267/S
安徽畜牧兽医	自办发行	月刊	30.00	合肥市美菱大道 421 号	230001	0551-3636491	李东风	eastwind@mail.hf.ah.cn	CN34-1148/S
浙江畜牧兽医	自办发行	双月刊	60.00	杭州市凯旋路 268 号浙江大学动物科学学院转编辑部	310029	0571-86971701	孙兰君	zjxmsy@zju.edu.cn	CN33-1098/S
福建畜牧兽医	34-81	双月刊	30.00	福建省福州市鼓屏路 153 号福建畜牧兽医编辑部	350003	0591-87856764	许宋祺	fjxmsy@163.com	CN35-1103/S