

## FAT/CD36 融合蛋白的表达及其对鸡腹脂沉积的特异性调控

束 刚, 冯嘉颖, 余凯凡, 徐平稳, 朱晓彤, 高 萍, 王松波, 刁欠云, 王修启, 张永亮, 江青艳

(华南农业大学动物科学学院, 广州 510640)

**摘要:** 【目的】脂肪酸转位酶 (fatty acid translocase, FAT/CD36) 是介导脂肪酸跨膜转运和脂肪细胞聚脂的重要载体蛋白。本试验采用主动免疫法研究 FAT/CD36 在鸡脂肪沉积调控中的作用。【方法】将 FAT/CD36 膜外区抗原表位基因片段克隆入表达载体 pET-32a (+), 并转化在大肠杆菌 BL21 (DE3), 构建 FAT/CD36 融合蛋白表达载体。主动免疫试验选取 22 日龄黄羽肉鸡 60 只, 按公、母各随机分为 2 组, 共 4 组。公鸡和母鸡的试验组分别在第 34、49、和 63 天肌肉注射 1 mg 重组鸡 FAT/CD36 融合蛋白, 以牛血清白蛋白 (bovine serum albumin, BSA) 为对照。【结果】重组菌表达分子量约为 29 kD 的鸡 FAT/CD36 融合蛋白, 在 0.1 mmol·L<sup>-1</sup> IPTG 诱导 6 h 后, 目的蛋白表达量占菌体总蛋白的 32%。表达产物主要以包涵体的形式存在, 经纯化并透析复性后得到高纯度的 FAT/CD36 融合蛋白。主动免疫后, 公鸡和母鸡试验组的血清抗 FAT/CD36 抗体水平逐渐升高, 并在首次免疫后显著高于各自对照组。主动免疫 FAT/CD36 能特异性降低公鸡的腹脂率, 但对母鸡无显著性影响。试验组与对照组皮下脂肪厚度差异不显著。【结论】FAT/CD36 对鸡脂肪调控具有典型的性别特异性和部位差异。试验结果为进一步阐明禽类脂肪组织特异性沉积的分子机制提供理论依据。

**关键词:** 脂肪酸转位酶; 融合蛋白; 主动免疫; 黄羽肉鸡; 脂肪沉积

## Prokaryotic Expression of FAT/CD36 Fusion Protein and the Specific Effects on the Deposition of Visceral Fat in Cockerel Chicks

SHU Gang, FENG Jia-ying, YU Kai-fan, XU Ping-wen, ZHU Xiao-tong, GAO Ping, WANG Song-bo, XI Qian-yun, WANG Xiu-qi, ZHANG Yong-liang, JIANG Qing-yan

(College of Animal Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510640)

**Abstract:** 【Objective】Fatty Acid Translocase (FAT/CD36) is an important carrier protein involved in the transmembrane transportation of fatty acids and cellular triglyceride accumulation. This experiment was designed to get a better understanding of the role of FAT/CD36 in the adipose deposition by active immunization method. 【Method】Chicken FAT/CD36 extracellular antigen domain partial gene fragment was cloned, inserted into the prokaryotic expression vector pET-32a(+) between *Bam*H I and *Xho* I sites, and translated in *Escherichia coli* BL21 (DE3). Then, sixty 22-day-old yellow-feathered broilers were randomly divided into male, female control groups and two experiment groups inoculated i.m. with 1 mg of the chicken FAT/CD36 and bovine serum albumin (BSA) immunogens on 34 d, 49 d and 63 d, respectively. At the end of trial, all birds were sacrificed for the fat deposition evaluation. 【Result】A 29 kD recombinant chicken FAT/CD36 fusion protein was expressed in *Escherichia coli* BL21 (DE3). After induced for 6 hours by adding IPTG to a final concentration of 0.1 mmol·L<sup>-1</sup>, the fusion protein amounted up to 32% of the total bacterial protein expressed and existed mainly in inclusion body, which was further purified by affinity chromatography and dialysis. The levels of serum anti-FAT/CD36 antibody in both male and female treatment groups gradually elevated and were significantly higher than that in each control group after the first immunization. It was interesting to find that the active immunization of FAT/CD36 specifically decreased the percentage of visceral fat in male but not female broilers, whereas the thickness of subcutaneous fat was unchanged. 【Conclusion】The results indicated the role of chicken FAT/CD36 in the regulation of adipose

收稿日期: 2008-03-11; 接受日期: 2008-06-13

基金项目: 国家重点基础研究发展计划 (2009CB941601), 国家自然科学基金青年基金 (30500367), 国家自然科学基金委-广东联合基金重点项目 (u0731004), 广东省自然科学基金 (07118116) 和教育部留学回国人员科研启动基金资助项目

作者简介: 束 刚 (1979—), 男, 安徽庐江人, 硕士, 研究方向为动物营养生理学。Tel: 020-85285467; E-mail: shugang@scau.edu.cn。共同第一作者冯嘉颖 (1982—), 女, 广东珠海人, 硕士研究生, 研究方向为动物营养生理学。通信作者江青艳 (1966—), 男, 江西波阳人, 教授, 博士, 研究方向为动物营养生理学。Tel: 020-85285469; E-mail: qjiang@scau.edu.cn

with gender- and site-specific manner, which provided a further understanding of the fat deposition mechanism in avian.

**Key words:** fatty acid translocase; prokaryotic expression; active immunity; yellow-feathered broilers; fat deposition

## 0 引言

【研究意义】禽类的脂肪组织主要分布在皮下、腹腔以及肌肉等组织器官周围。脂肪的组织特异性沉积与胴体组成和肉品质密切相关。过度的腹脂沉积不仅降低了饲料利用率和胴体品质,同时还增加了畜产品加工工序<sup>[1]</sup>,而肌肉中维持一定的脂肪含量却是保持优良肉品质的一个重要因素<sup>[2]</sup>。因此,利用生物技术手段,靶向性调控特定部位脂肪的沉积一直是营养生理学研究的热点。【前人研究进展】近年来,部分研究以脂肪细胞膜总蛋白作为对象,采用免疫中和技术达到降低脂肪沉积的作用<sup>[3]</sup>。但脂肪细胞膜总蛋白结构和成分复杂,可能与其它组织细胞膜蛋白发生交叉反应,具有潜在的副作用,而且对脂肪沉积的调控不具有部位的特异性<sup>[4]</sup>。脂肪酸转位酶(fatty acid translocase, FAT/CD36)是近年来发现参与脂肪酸跨膜转运的重要载体蛋白<sup>[5]</sup>。鸡 FAT/CD36 主要在肌肉和脂肪,尤其是腹脂组织高丰度表达<sup>[6-7]</sup>。研究表明, FAT/CD36 在脂肪酸转运和脂肪代谢过程中具有重要作用<sup>[8]</sup>。Drover 等报道, FAT/CD36 能够促进脂肪细胞甘油三酯的合成和外周乳糜微粒的清除<sup>[9]</sup>。Bonen 等研究也发现,肥胖和 II 型糖尿病人皮下脂肪 FAT/CD36 蛋白的表达水平分别上调 76%和 150%<sup>[10]</sup>。【本研究切入点】笔者前期克隆了黄羽肉鸡 FAT/CD36 全序列,并发现 FAT/CD36 mRNA 特异性随公鸡腹脂沉积量的增加其表达水平也逐渐上调<sup>[7]</sup>,提示该基因可能在脂肪的部位特异性沉积过程中发挥作用。【拟解决的关键问题】为此,本试验构建了 FAT/CD36 膜外区域抗原表位的原核表达载体,并优化表达参数。所得融合蛋白用以制备抗原,采用主动免疫法验证 FAT/CD36 对公鸡腹脂沉积的特异性调控作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

1.1.1 组织来源 腹脂样品采自华南农业大学实验鸡场黄羽肉鸡公鸡,液氮速冻, -80℃ 保存备用。

1.1.2 菌株和载体 大肠杆菌菌株 DH5 $\alpha$  和 BL21 菌株,以及表达载体 pET-32a(+)由华南农业大学动物科学学院基因工程实验室惠赠。克隆载体 pGEM-T vector

载体购自 Promega 公司。

### 1.2 试验方法

1.2.1 引物设计和合成 根据鸡 FAT/CD36 基因序列(DQ323177),分别采用 <http://www.sbc.su.se/miklos/DAS/> 和 <http://bio.dfci.harvard.edu/Tools/antigenic.pl> 在线工具分析跨膜区位置和抗原表位。用 Primer 5.0 设计基因特异性引物 Sense: 5'-CGCGGATCCAATCTTTCTTACTGGG-3'; Antisense: 5'-CCGCTCGAGGACCTGATCTGTACAG-3'。用于扩增膜外区抗原决定表位(位于 1 032—1 280 bp),并在上、下游 5'端加上 *Bam*H I 和 *Xho* I 酶切位点(斜体部分),扩增产物全长为 267 bp,引物由北京赛百盛生物公司合成。

1.2.2 目的基因 FAT/CD36 的 PCR 扩增 采用 Trizol (购自赛百盛公司)一步法提取鸡腹脂样品总 RNA, DNase I (大连 TaKaRa 公司)处理以消除基因组微量 DNA 污染,以 OligodT<sub>(18)</sub> 为反转录引物,用 MMLV 反转录酶(购自 Promega 公司)合成第一链 cDNA,并以此为模板,用上述引物扩增 FAT/CD36 特异性基因片段。反应结束后,用 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物。

1.2.3 FAT/CD36 原核表达载体的构建 从琼脂糖凝胶中切下目的条带,回收 PCR 产物并与 pGEM-T vector 载体 16℃ 连接过夜,转化大肠杆菌 DH5 $\alpha$  感受态细胞,涂布加有 X-Gal 和 IPTG (购自 Sigma 公司)的 LB (含 50 mg·L<sup>-1</sup> Amp) 平板。在平板上挑取白色菌落,培养后提取质粒进行 *Bam*H I /*Xho* I (购自大连 TaKaRa 公司)双酶切鉴定。阳性的重组质粒送上海英骏生物技术公司测序。测序正确的质粒用 *Bam*H I 和 *Xho* I 双酶切并回收目的片段,克隆入质粒 pET-32a(+),命名为 pET-FAT/CD36。

1.2.4 pET-FAT/CD36 表达条件的优化 IPTG 最佳诱导浓度的确定:将表达质粒 pET-FAT/CD36 转化至 BL21 感受态细胞,命名为 BL21-pET-FAT/CD36。挑取重组菌于 LA 液体培养基中,37℃ 振荡培养过夜。按 1:100 体积接种到 5 ml LB (含 50 mg·L<sup>-1</sup> Amp) 液体培养液中,37℃,200 r/min 振荡培养至细菌悬液 OD<sub>600</sub>=0.6~0.8 时,加入终浓度分别为 0、0.01、0.1、0.2、0.5、1、5 和 10 mmol·L<sup>-1</sup> 的 IPTG,置 37℃ 摇床继续培养 4 h。另取含空质粒 pET-32a(+ )的 BL21 菌为对照,以同样方法诱导, IPTG 终浓度为 1 mmol·L<sup>-1</sup>。

表达产物进行 SDS-PAGE 电泳分析。最佳诱导时间的确定:将重组菌用  $0.1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  的 IPTG 分别在诱导 0、1、2、3、4、6、8 和 12 h 时,每次取一个离心管,样品进行 SDS-PAGE 分析。

1.2.5 FAT/CD36 原核表达蛋白的可溶性分析 采用已确定的最佳诱导条件进行诱导表达后收集菌体,加入结合缓冲液 ( $5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  咪唑,  $0.5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  NaCl,  $20 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  Tris-Cl, pH 7.9), 冰浴超声 50 次,随后离心分别取上清和沉淀进行 SDS-PAGE 分析融合表达产物的分布。

1.2.6 重组融合蛋白的纯化 将培养过夜的 BL21-pET-FAT/CD36 菌液接种到 500 ml LB (含  $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  Amp) 液体培养液中,在  $37^\circ\text{C}$ 、 $0.1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  IPTG 诱导培养 6 h 后以  $10\,000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$  离心 10 min 收集菌体,用  $8 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  尿素的结合缓冲液溶解,离心后用 His-Bind 树脂 (购自 Novagen 公司) 进行纯化。

1.2.7 主动免疫试验 以复性和浓缩后的鸡 FAT/CD36 重组融合蛋白制备终浓度  $1 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$  的弗氏油乳剂免疫原,另以 BSA (购自 Biotech 公司) 为对照抗原,  $4^\circ\text{C}$  保存备用。

试验选用 60 羽 1 日龄黄羽肉鸡,公母各半,在华南农业大学实验鸡场饲养。1~21 日龄采用常规方法进行育雏,以后单笼饲养,按性别随机分为公母对照组和处理组,每组 15 羽,自由采食和饮水。基础日粮为华南农业大学实验鸡场配制的饲料。1~21 日龄饲喂小鸡料 (CP=21.5%, EE=3.6%), 22~76 日龄饲喂中鸡料 (CP=20.0%, EE=4.6%), 全期饲养共计 77 d。在第 34、49 和 63 天,试验组和对照组分别肌注 1 ml/羽 FAT/CD36 免疫原和 BSA 免疫原,每次注射前翅静脉采血,分离血清  $-20^\circ\text{C}$  保存备用。在第 77 天屠宰所有试验鸡,测量尾根部皮下脂肪厚度,分离腹脂和肌胃外脂肪并称量,计算腹脂率。

腹脂率 = (腹脂重 + 肌胃外脂肪重) / 活重  $\times 100\%$ 。

1.2.8 血清抗体效价 利用 ELISA 方法测定血浆中抗 FAT/CD36 抗体效价。鸡 FAT/CD36 重组融合蛋白以  $0.5 \mu\text{g}$ /孔包被 96 孔板,随后每孔加入  $100 \mu\text{l}$  (按 1 : 1 600 稀释) 的样品待测血清,1%BSA 封闭后加入兔抗鸡 IgY 辣根过氧化物酶 (购自广州博理生物科技有限公司) 反应 1 h, TMB 显色 30 min,  $1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{H}_2\text{SO}_4$  终止反应后测定  $\text{OD}_{450 \text{ nm}}$ 。

1.2.9 数据处理和统计 数据采用 SPSS11.0 软件进行统计分析,用 *t* 检验分析公、母鸡试验组和对照组抗体水平、皮下脂肪厚度和腹脂率的差异显著性,取

$P < 0.05$  作为差异显著临界值。

## 2 结果与分析

### 2.1 重组质粒 pET-FAT/CD36 的酶切鉴定

以腹脂 cDNA 为模板,用特异性引物成功扩增到长度为 260 bp 的 FAT/CD36 基因的片段。将目的片段克隆连接 pET-32a(+), 所得重组质粒 pET-FAT/CD36 用 *Bam*H I 和 *Xho* I 进行双酶切并测序,结果证实插入序列和阅读框架完全正确 (图 1)。

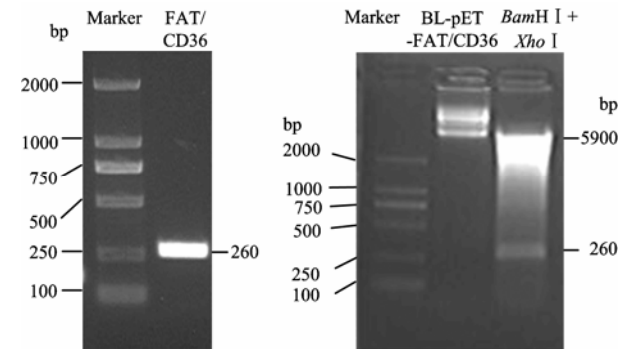


图 1 FAT/CD36 膜外区抗原表位的 PCR 扩增和 pET-FAT/CD36 重组质粒酶切鉴定

Fig. 1 PCR amplification results of FAT/CD36 extracellular antigen domain and identification of recombinant plasmid pET-FAT/CD36 by restriction endonuclease digestion

### 2.2 IPTG 最佳诱导浓度和诱导时间的确定

从图 2 可知,以不同终浓度的 IPTG 对重组菌诱导表达 4 h 后均有融合蛋白的表达,大小约为 29 kD。蛋白表达量随 IPTG 浓度增加无显著变化。

用  $0.1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  IPTG 诱导 2 h 即可检测到融合蛋白表达,表达量随时间延长而递增,至 6 h 目的蛋白表达量已经达到菌体总蛋白的 32% 左右 (图 3)。

### 2.3 融合表达产物的可溶性分析和纯化

图 4 结果表明, BL-pET-FAT/CD36 重组菌的表达产物在上清中含量极低,目的蛋白主要以非可溶性的包涵体形式存在。总蛋白经亲和层析纯化和透析后,可得到高纯度单一蛋白条带 (29 kD) (图 5)。

### 2.4 主动免疫 FAT/CD36 后血清抗体水平

公鸡和母鸡肌肉注射 FAT/CD36 抗原片段后,血清中抗体水平急剧上升,并在再次加强免疫后达到最高峰。无论公鸡还是母鸡,其 49、63 和 77 d 血清抗

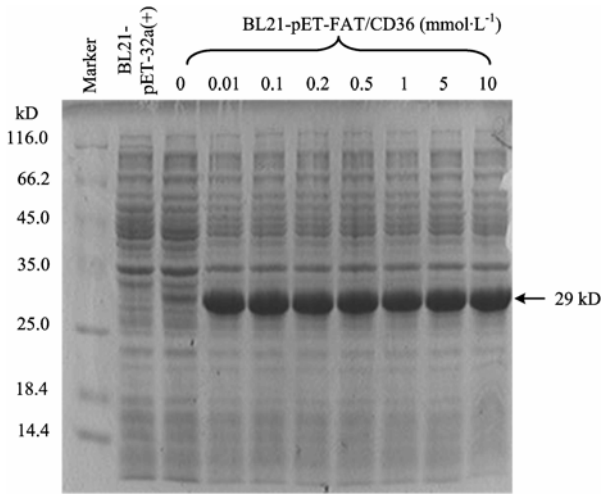


图 2 不同浓度 IPTG 诱导 BL-pET-FAT/CD36 蛋白的 SDS-PAGE (12%) 检测

Fig. 2 SDS-PAGE (12%) analysis of BL-pET-FAT/CD36 induced by different concentrations of IPTG

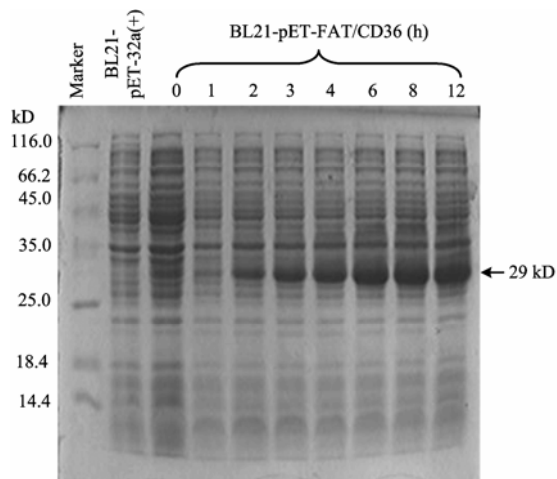


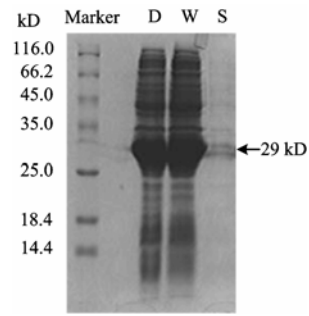
图 3 不同诱导时间 (h) BL-pET-FAT/CD36 表达的 SDS-PAGE (12%) 检测

Fig. 3 SDS-PAGE (12%) analysis of the expression of BL-pET-FAT/CD36 during different inducing times (h)

体水平平均显著高于各自对照组 (图 6)。

### 2.5 主动免疫 FAT/CD36 对脂肪沉积的影响

由图 7 可知, 主动免疫 FAT/CD36 能够显著降低公鸡腹脂率达 40%左右, 但对母鸡却无显著性影响。而且, 公鸡和母鸡的对照组与试验组之间皮下脂肪厚度差异也不显著。



D: 沉淀; W: 全细胞裂解液; S: 上清  
D: Deposit; W: Whole cell lysates; S: Supernatant

图 4 BL21-pET-FAT/CD36 可溶性分析

Fig. 4 Dissolubility analysis of BL-pET-FAT/CD36

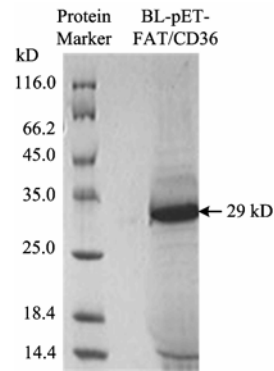


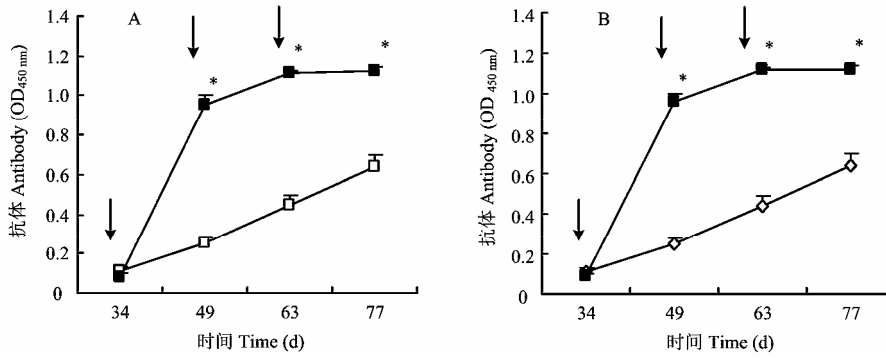
图 5 FAT/CD36 融合蛋白表达产物纯化

Fig. 5 The purified product of BL-pET-FAT/CD36

## 3 讨论

FAT/CD36 的结构包括胞内区、跨膜区和胞外区 3 部分, 有两个跨膜区<sup>[6]</sup>, 另有两个疏水氨基酸区, 分别在近 FAT/CD36 氨基端和羧基端<sup>[11]</sup>。本试验为获得鸡 FAT/CD36 蛋白的原核表达产物, 分别尝试表达整个开放阅读框和两个膜外区抗原表位片段 (39—87 位氨基酸和 234—316 位氨基酸), 但只有一个抗原表位能够正常表达, 这可能与 FAT/CD36 的信号肽序列和稀有密码子等有关。有研究表明, 目的蛋白的信号肽序列和过多的稀有密码子是影响原核生物表达的重要限制因素<sup>[12-14]</sup>。本试验最终选择表达的 FAT/CD36 抗原表位 (第 234—316 位氨基酸) 只存在一个稀有密码子 (精氨酸 AGA), 保证了其在大肠杆菌中的高效表达。

由于 pET-32a(+)是一种可高效克隆及表达的质粒;



A: 公鸡血清抗 FAT/CD36 抗体水平; B: 母鸡血清抗 FAT/CD36 抗体水平。\*表示差异显著 ( $P < 0.05$ )，箭头代表免疫注射抗原; ■表示 FAT/CD36 主动免疫组; □BSA 对照组。下同  
 A: Plasma anti-FAT/CD36 antibody level of male broilers; B: Plasma anti-FAT/CD36 antibody level of female broilers. \* indicates significant difference ( $P < 0.05$ ). Arrowheads indicate antigen was injected. ■indicate FAT/CD36 experiment groups; □BSA indicate control groups. The same as below

图 6 黄羽肉鸡主动免疫 FAT/CD36 蛋白的血清抗 FAT/CD36 抗体水平 (n=15)

Fig. 6 Plasma anti-FAT/CD36 antibody level of yellow-feathered broiler in the FAT/CD36 active immunization experiment (n=15)

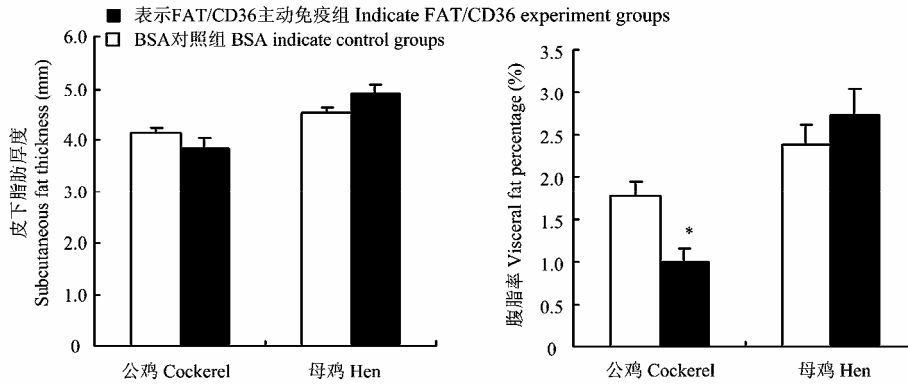


图 7 黄羽肉鸡免疫 FAT/CD36 蛋白的皮下脂肪厚度和腹脂率 (n=15)

Fig. 7 Subcutaneous fat thickness and the percentage of visceral fat of yellow-feathered broiler in the FAT/CD36 active immunization experiment (n=15)

DH5α 菌株转化效率高, 并可高拷贝表达质粒; BL21 用于高效表达克隆于 pET 的含有 T7 噬菌体启动子的表达载体的基因, 因此本研究以 pET-32a(+)为载体, 与靶基因克隆后, 先转化入 DH5α 菌株内, 进行 PCR 和酶切检验, 然后再转化入 BL21 菌株内, 进行靶基因的高效表达。用 IPTG 诱导融合蛋白表达在大肠杆菌中表达, 表达产物相对分子质量与预期相符, 并根据 SDS-PAGE 分析结果确定最佳表达条件, 优化选择了 IPTG 的浓度和诱导时间。重组异源蛋白在细菌(大肠杆菌)中高效表达易形成包涵体, 此外, 由高效表达质粒构建的大肠杆菌工程菌大量合成非天然的同源蛋白质, 有时也可形成包涵体<sup>[15]</sup>。对诱导表达产物进

行可溶性鉴定后, 证实融合蛋白主要以包涵体形式存在, 将包涵体用 8 mol·L<sup>-1</sup> 尿素溶解后纯化获得了纯度较高的目的蛋白。

人和鼠 FAT/CD36 在脂肪<sup>[5]</sup>、心肌、骨骼肌<sup>[16]</sup>、平滑肌细胞<sup>[17]</sup>和肾上皮细胞<sup>[18]</sup>等部位都有表达。鸡 FAT/CD36 主要在肌肉和脂肪, 尤其是腹脂组织高丰度表达<sup>[6-7]</sup>。研究发现, FAT/CD36 对脂肪酸的转运和甘油三酯的合成有重要作用<sup>[9,19]</sup>。采用骨骼肌细胞模型的研究结果发现, FAT/CD36 特异性抑制剂 N-油酰基硫代琥珀酰亚胺 (sulfo-N-succinimidyl oleate, SSO) 阻断线粒体 FAT/CD36 的作用后, 骨骼肌细胞的棕榈酸酯氧化降低, 并呈现剂量依赖性。当 SSO 的浓度达

到最大时 ( $200 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ), 棕榈酸酯氧化降低了 95%<sup>[20]</sup>。但有关 FAT/CD36 功能的阻断对脂肪细胞聚酯和脂肪沉积的研究尚未见报道。

本试验采用鸡 FAT/CD36 重组融合蛋白免疫黄羽肉鸡, 在首次免疫后 15 d 就产生了较高的抗体效价, 而且特异性地抑制公鸡腹脂的沉积水平, 说明体内抗 FAT/CD36 抗体能够有效中和内源性脂肪细胞膜 FAT/CD36, 通过部分阻断其转运脂肪酸的功能, 从而降低脂肪的沉积。但本试验结果同样观察到主动免疫 FAT/CD36 对公鸡皮下脂肪厚度和母鸡脂肪水平却无显著影响, 究其原因很可能与 FAT/CD36 基因表达的组织特异性和性别差异有关。试验前期研究发现, FAT/CD36 在腹脂组织的表达水平极显著地高于皮下脂肪, 公鸡腹脂 FAT/CD36 mRNA 的表达量随日龄增加逐渐上升, 而母鸡腹脂 FAT/CD36 mRNA 的表达随日龄的增加反而出现下降趋势<sup>[7]</sup>。上述结果提示, 在皮下脂肪和母鸡腹脂可能存在其它非 FAT/CD36 依赖性脂肪酸跨膜转运过程, 如 FATPs<sup>[21]</sup>和膜脂肪酸结合蛋白 (plasma membrane fatty acid binding protein, mFABP)<sup>[22]</sup>等介导的脂肪酸转运, 因此主动免疫 FAT/CD36 只能特异性降低公鸡腹脂的沉积。本文的研究结果一方面从动物整体水平为阐明 FAT/CD36 参与鸡脂肪组织的部位特异性沉积提供试验依据, 另一方面也为利用脂肪酸膜转运蛋白作为调控动物脂肪沉积的生物技术手段靶位点提供研究基础。

## 4 结论

鸡 FAT/CD36 融合蛋白表达载体在  $0.1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  IPTG 诱导 6 h 后, 能够以包涵体的形式大量表达。主动免疫 FAT/CD36 能特异性降低公鸡的腹脂沉积水平。

## References

- [1] Sillence M N. Technologies for the control of fat and lean deposition in livestock. *The Veterinary Journal*, 2004, 167: 242-257.
- [2] Fiedler I, Nurnberg K, Hardge T, Nürnberg G, Ender K. Phenotypic variations of muscle fibre and intramuscular fat traits in Longissimus muscle of F2 population Duroc×Berlin miniature pig and relationships to meat quality. *Meat Science*, 2003, 63(1): 131-139.
- [3] De clerq L, Mourot J, Genart C, Davidts V, Boone C, Remacle C. An anti-adipocyte monoclonal antibody is cytotoxic to porcine preadipocytes in vitro and depresses the development of pig adipose tissue. *Journal of Animal Science*, 1997, 75: 1791-1797.
- [4] 曹谨玲, 陈剑杰. 应用脂肪细胞膜免疫技术降低动物脂肪的研究进展. *动物医学进展*, 2003, 24(3): 7-9.  
Cao J L, Cheng J J. Study on reducing animal fat by immunization with antidodies to adipocyte plasma membranes. *Progress in Veterinary Medicine*, 2003, 24(3): 7-9. (in Chinese)
- [5] Abumrad N, Coburn C, Ibrahim A. Membrane proteins implicated in long-chain fatty acid uptake by mammalian cells: CD36, FATP and FABPm. *Biochim et Biophys Acta*, 1999, 1441(1): 4-13.
- [6] Abumrad N A, el-Maghrabi M R, Amri E Z, Lopez E, Grimaldi P A. Cloning of a rat adipocyte membrane protein implicated in binding or transport of long-chain fatty acids that is induced during preadipocyte differentiation. Homology with human CD36. *The Journal of Biological Chemistry*, 1993, 268(24): 17665-17668.
- [7] 冯嘉颖, 宋予震, 束 刚, 朱晓彤, 江青艳, 高 萍, 徐平稳, 王修启, 冯定远. 黄羽肉鸡 FAT/CD36 cDNA 的分子克隆及其发育性表达. *中国农业科学*, 2007, 40(10): 2336-2342.  
Feng J Y, Song Y Z, Shu G, Zhu X T, Jiang Q Y, Gao P, Xu P W, Wang X Q, Feng D Y. Molecular cloning and ontogenetic expression of fatty acid translocase cDNA in yellow-feathered broiler. *Scientia Agricultura Sinica*, 2007, 40(10): 2336-2342. (in Chinese)
- [8] Pohl J, Ring A, Korkmaz U, Ehehalt R, Stremmel W. FAT/CD36-mediated long-chain fatty acid uptake in adipocytes requires plasma membrane rafts. *Molecular Biology of the Cell*, 2005, 16(1): 24-31.
- [9] Drover V A, Ajmal M, Nassir F, Davidson N O, Nauli A M, Sahoo D, Tso P, Abumrad N A. CD36 deficiency impairs intestinal lipid secretion and clearance of chylomicrons from the blood. *The Journal of Clinical Investigation*, 2005, 115(5): 1290-1297.
- [10] Bonen A, Tandon N N, Glatz J F, Luiken J J, Heigenhauser G J. The fatty acid transporter FAT/CD36 is upregulated in subcutaneous and visceral adipose tissues in human obesity and type 2 diabetes. *International Journal of Obesity*, 2006, 30(6): 877-883.
- [11] Febbraio M, Hajjar D P, Silverstein R L. CD36: a class B scavenger receptor involved in angiogenesis, atherosclerosis, inflammation, and lipid metabolism. *The Journal of Clinical Investigation*, 2001, 108(6): 785-791.
- [12] 张永红, 王长法, 杨少华, 高运东, 李爱芹, 王洪梅, 李景鹏, 仲跻峰. 鲁西黄牛  $\alpha$  干扰素基因的克隆及表达. *动物学杂志*, 2007, 42(1): 102-106.  
Zhang Y H, Wang C F, Yang S H, Gao Y D, Li A Q, Wang H M, Li J P, Zhong J F. Cloning and expression of IFN- $\alpha$  gene in Luxi Yellow Cattle. *Chinese Journal of Zoology*, 2007, 42(1): 102-106. (in Chinese)

- [13] 徐万祥, 邱德义, 熊 艳, 申庆祥, 顾少华, 曹根涛, 应 康, 谢毅. 去N端信号肽和C端跨膜区猪卵透明带-3 $\beta$ 蛋白在原核系统表达的研究. *生物工程学报*, 2001, 17(1): 16-19.
- Xu W X, Qiu D Y, Xiong Y, Shen Q X, Gu S H, Cao G T, Ying K, Xie Y, Study on the expression of pig zona pellucida-3 $\beta$  excluding N-terminus signal peptide and C-terminus transmembrane-like domain in *Escherichia coli*. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2001, 17(1): 16-19. (in Chinese)
- [14] 冯德江, 刘 翔, 李旭刚, 朱 祯. tRNA 丰度与基因表达的关系. *中国生物工程杂志*, 2002, 22(6): 4-7.
- Feng D J, Liu X, Li X G, Zhu Z. The relationship between tRNA abundance and gene expression. *China Biotechnology*, 2002, 22(6): 4-7. (in Chinese)
- [15] Carrio M M, Villaverde A. Construction and deconstruction of bacterial inclusion bodies. *Journal of Biotechnology*, 2002, 96(1): 3-12.
- [16] Van Nieuwenhoven F A, Verstijnen C P, Abumrad N A, Willemsen P H, Van Eys G J, Van der Vusse G J, Glatz J F. Putative membrane fatty acid translocase and cytoplasmic fatty acid-binding protein are coexpressed in rat heart and skeletal muscles. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 1995, 207(2): 747-752.
- [17] Kwok C F, Juan C C, Ho L T. Endothelin-1 decreases CD36 protein expression in vascular smooth muscle cells. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 2007, 292(2): E648-E652.
- [18] Susztak K, Ciccone E, McCue P, Sharma K, Bottinger E P. Multiple metabolic hits converge on CD36 as novel mediator of tubular epithelial apoptosis in diabetic nephropathy. *PLoS Medicine*, 2005, 2(2): e45.
- [19] Benton C R, Han X X, Febbraio M, Graham T E, Bonen A. Inverse relationship between PGC-1 $\alpha$  protein expression and triacylglycerol accumulation in rodent skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology*, 2006, 100(2): 377-383.
- [20] Bezaire V, Bruce C R, Heigenhauser G J, Tandon N N, Glatz J F, Luiken J J, Bonen A, Spriet L L. Identification of fatty acid translocase on human skeletal muscle mitochondrial membranes: essential role in fatty acid oxidation. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 2006, 290(3): E509-E515.
- [21] Hirsch D, Stahl A, Lodish H F. A family of fatty acid transporters conserved from mycobacterium to man. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1998, 95(15): 8625-8629.
- [22] Stremmel W, Strohmeyer G, Borchard F, Kochwa S, Berk P D. Isolation and partial characterization of a fatty acid binding protein in rat liver plasma membranes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1985, 82(1): 4-8.

(责任编辑 高 雨, 林鉴非)