

脂肪酸合成酶基因(FASN)的研究进展

周国利^{1,2}, 金海国^{1*} (1. 东北农业大学动物科技学院, 黑龙江哈尔滨 150330; 2. 聊城大学生命科学学院, 山东聊城 252059; 3. 吉林省农业科学院畜牧分院, 吉林公主岭 136100)

摘要 在哺乳动物中, 脂肪酸合成酶在脂肪酸合成中起着至关重要的作用。它含有7个活性位点, 在还原型辅酶的存在下, FASN负责乙酰辅酶A(acetyl-CoA)和丙二酰辅酶A(malonyl-CoA)从头合成一种长链软脂酸(棕榈酸)的所有催化步骤。脂肪酸合成酶是脂肪合成的关键酶, 并且在腹脂肪组织重变异及相关性状变异中起着重要作用。综述了FASN及其基因在生命活动中的地位、作用、定位、结构及FASN基因的遗传变异与生产性状关系的研究进展。

关键词 FASN基因; 多态性; 生产性状

中图分类号 O559 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2008)09-03559-02

Research Progress in the Fatty Acid Synthase Gene

ZHOU Guo-li et al (College of Animal Science and Technology, Northeast Agricultural University, Harbin, Heilongjiang 150330)

Abstract The fatty acid synthase (FASN) plays a central role in lipogenesis of mammals through the synthesis of saturated long-chain fatty acids from acetyl-CoA and malonyl-CoA. The fatty acid synthase is a key enzyme of lipogenesis and may play a crucial role in the weight variability of the abdominal adipose tissue. In this review the status, function, mapping, structure of FASN gene, and the association between genetic variation of FASN gene and production trait were summarized.

Key words FASN gene; Polymorphisms; Production trait

脂肪性状不仅涉及家养动物的饲料报酬、抗病力、繁殖性能及肉用类型, 而且关系到肌肉品质的风味。动物体脂的控制是一个复杂的过程, 不同种类、不同年龄的动物体脂水平有很大差异, 脂肪酸合成酶在动物体脂生成、沉积中发挥重要作用。脂肪酸合成酶(Fatty acid synthase, FASN)是一种基本的代谢酶类。

1 FASN 在生命活动中的地位及作用

在哺乳动物中, 脂肪酸合成酶在脂肪酸合成中起着至关重要的作用。它含有7个活性位点, 在还原型辅酶的存在下, FASN负责乙酰辅酶A(acetyl-CoA)和丙二酰辅酶A(malonyl-CoA)从头合成一种长链软脂酸(棕榈酸)的所有催化步骤^[1]。FASN基因的表达直接影响着脂肪酸合成酶多寡, 对控制动物体脂沉积具有重要的意义。在动物的全部生命过程中, FASN的合成是依靠食物和激素的一个调控过程。

2 FASN 基因在动物中的定位

FASN基因已在一些哺乳动物中完成了克隆和测序, 如老鼠(M84761)、鸡(J04485)、鼠(X13135、AF127033)、人(NM004104)^[2]和猪(AY183428)^[1]。人的FASN基因已定位到染色体17q25, 鸡的位于18号染色体上, 利用物理图谱和连锁分析的方法已将猪的FASN基因定位到12p1.5^[1], 利用原位杂交和体细胞杂交的方法, 将牛的FASN基因定位到染色体19q22上^[2]。

3 FASN 基因结构的分子生物学特性

Matthew等分离得到人脂肪酸合成酶基因, 对其5'端6 kb的序列进行研究, 发现有3个外显子和3个内含子, 3个转录起始位点和2个启动子^[3]。Kaneda等对鹅脂肪酸合成酶基因作了研究, 发现脂肪酸合成酶基因全序列长度大约有50 kb, 5'端15 kb核苷酸序列中含有7个外显子, 只有1个转录

起始位点, 并且还含有1个连续开放的可读框, 这个可读框内含有半胱氨酸的密码子, 半胱氨酸是-酮脂酰合成酶结构域中不可缺少的部分^[4]。鼠脂肪酸合成酶序列大约16 kb, 分析发现有42个内含子, 43个外显子, 5'端区域还包括调节脂肪酸合成酶基因表达的激素调控位点^[5]。

3.1 FASN 基因外显子和内含子结构特性 脊椎动物基因的典型特征是5'端都有1个不翻译的外显子I, 内含子I把不翻译的外显子I与5'端第1个编码的外显子分开。人、鹅、鼠的FASN都含有不翻译的外显子I。人和鼠的外显子I有相对较小的保守性, 只有65%的共有序列, 人和鹅的外显子I的保守性更小, 仅有41%的相同序列。人和鼠的FASN外显子和外显子I分别有88%和90%的共有序列, 保守性较高^[3]。根据其保守性, 可以研究物种起源、进化及其亲缘关系, 也可用来研究基因的融合。在真核生物中, 分隔断裂基因的居间序列, 即插入的非编码区序列称为内含子。Jayakumar等认为人和鼠FASN的内含子都很短, 内含子I是FASN内含子中较长的一个。

Matthew等通过试验证明, 人的FASN内含子I的长度大小与启动子I的活性有关, 启动子I的活性增加近似与内含子I序列缺失程度成比例^[3]。用大小相似、并且不包含任何一个已知启动子或调控活性的人HPRT(次黄嘌呤-鸟嘌呤磷酸核糖转移酶)基因的内含子I(1.3 kb)或HPRT基因的内含子(1.4 kb)代替人脂肪酸合成酶基因的内含子I(1.4 kb), 结果启动子活性提高10倍。由此可以推测, 内含子I中有一些特定的序列可以抑制启动子I的活性。

3.2 FASN 基因的转录起始位点的特征 Matthew等用引物扩增和核苷酸酶分析人的FASN 5'端, 结果表明, 有3个转录起始位点^[3]。转录起始位点I在不翻译的外显子I上, 转录起始位点II和转录起始位点III定位在内含子I上, 分别在+1602和+1613 bp处, 分别在翻译起始点ATG上游60和49 bp处。Kaneda等发现鹅的FASN基因只有1个转录起始位点, 在翻译起始位点上游174 bp处的5'-ACA-3'的胞嘧啶处^[4]。

3.3 FASN 基因的启动子特征 Matthew等发现人的FASN

基金项目 聊城大学科技发展规划基金项目(X051005); 山东省教育厅基金项目(J04C11)。

作者简介 周国利(1975-), 男, 内蒙古赤峰人, 在读博士, 讲师, 从事动物分子数量遗传学的研究。* 通讯作者, 博士生导师, 教授, E-mail: khk1962@126.com。

收稿日期 2007-11-28

基因含有2个启动子,启动子I在外显子I上,在转录起始点I的上游,带有可识别的TATA框和CAAT框。TATA框与DNA双链解开和转录起始的位置有关,失去TATA框,转录将在许多点上开始^[3]。CAAT框的主要功能与RNA聚合酶的结合有关。启动子在转录起始位点的上游,在内含子I上。启动子II前有4个Spl框,启动子无TATA框和CAAT框,启动子II可能通过Spl框发挥作用。启动子的强度只有启动子I的1/5。

Matthew^[3]通过试验发现内含子I和启动子对启动子I都有抑制作用,并且启动子对启动子I起主要的抑制作用。两个启动子之间的空间间隔也是对启动子I抑制作用的重要因素。因此,可以设想在启动子上组装一个转录复合物,从而设下一个路障,干涉从启动子I开始的转录,达到阻碍脂肪酸合成酶基因的全面表达、减少软脂酸生成的目的。

Kameda等分析了鹅脂肪酸合成酶基因5'端-597~+124 bp之间的序列,发现在-28和-60 bp处有TATA框和CAAT框^[4]。由此可以推测此区有启动子存在,并推测启动子含有佛波脂(Phorbol ester)潜在的结合位点,cAMP诱导的转录因子AP-2和增强子结合蛋白C/EBP的结合位点,并且还有三碘甲状腺氨酸的调控元件。

3.4 FASN基因部分序列的比较 根据核苷酸序列推导出氨基酸序列,对氨基端1~352的氨基酸序列,即从翻译位点开始的共352个氨基酸序列,以及-酮脂酰合成酶半胱氨酸周围的15个氨基酸序列进行比较分析,结果表明,鹅与鸡之间有较高的保守性,分别为93.3%和73.3%^[4]。

4 FASN基因多态性与生产性状关系

4.1 猪 动物的体脂沉积所需的脂肪酸大多是由脂肪酸合成酶催化乙酰辅酶A和丙二酸单酰辅酶A合成脂肪酸。熊文中等研究发现,猪脂肪组织中脂肪酸合成酶与胴体脂肪量、胴体的脂肪率呈极显著正相关^[6]。FASN基因的表达直接影响脂肪酸合成酶多寡。Matthew等先后对鹅和人的脂肪酸合成酶基因进行了研究^[3]。FASN基因主要在脂肪组织和肝脏中表达。

单体中等从猪腹脂中提取总RNA,用RT-PCR扩增FASN基因,获得一条206 bp的片段,以pGEMT Easy vector为载体,将该基因片段克隆到大肠杆菌E.coli DH5,筛选阳性克隆并测序^[7]。测序结果表明,得到的片段为FASN基因的部分序列,与GenBank中登录的猪FASN基因(AI183428)494~699之间序列同源性达100%。以FASN基因片段的克隆为基础,构建了优化的半定量RT-PCR法,以18SrRNA为内标,研究从1日龄到28周龄杜长大腹脂中FASN基因表达的规律。结果显示,从1日龄到28周龄,FASN基因在腹脂mRNA水平呈逐渐升高的趋势;统计分析发现,1日龄与28周龄FASN在腹脂中mRNA水平存在显著性差异($P < 0.05$)。

陈杰等采用100头肥育期苏太猪,屠宰取背最长肌样品,测定各样品肌内脂肪(Intramuscular fat, IMF)含量,并根据IMF含量将样品分成高、中、低3个组,每组取肌内脂肪含量位于中间的20个个体为研究对象,共计60个个体,各组IMF百分含量(%)分别为(6.00 ± 1.14)、(9.46 ± 0.94)和(13.77 ± 2.12)^[8]。采用RT-PCR方法测定各样品中FASN基因和激素

敏感脂酶(Hormone sensitive lipase, HSL)基因的mRNA水平,并分析其与肌内脂肪含量之间的相关性,以揭示FASN和HSL基因的表达与肌内脂肪沉积的关系。结果表明,FASN或HSL基因表达水平与肌内脂肪含量之间并无显著的相关性($P > 0.05$),FASN和HSL基因mRNA的比值与肌内脂肪含量之间存在显著的正相关($R = 0.464, P < 0.01, n = 60$)。不同组别之间,随着肌内脂肪含量的增加,FASN和HSL基因表达水平的比值有升高的趋势。推测FASN和HSL基因在猪背最长肌肌内脂肪的沉积中发挥着作用。

4.2 鸡 在家禽中,脂肪沉积的遗传决定包括很多的机理。当前研究结果表明,肝脂肪酶(Hepatic lipogenic enzymes)和载脂蛋白(Apoproteins)基因是脂肪沉积的候选基因。Douaire等^[9]在鸡群体中发现腹脂肪垫和一些脂肪生成酶基因的mRNA的数理化存在正相关,如乙酰辅酶A羧化酶(acetyl-CoA carboxylase)、FASN、苹果酸酶(Malic enzyme)、硬脂酰辅酶A去饱和酶(Stearoyl-coenzyme A desaturase)和载脂蛋白AI与B(AI and B apoproteins)。Sourdoux等对火鸡商品系的研究表明,FASN的多态性与瘦肉型存在相关性,通过对同一突变的FASN基因的平均效应进行分析表明,瘦肉型与FASN基因多态性中的一个等位基因相关联^[10]。

Gacida等^[11]在卡贝乐(Campero)肉鸡品系群体中对FASN基因的最后一个内含子进行测序、PCR-RFLP分析,结果表明,在第459碱基处发生G到A的替换,导致了一个被Hae III和Ava II内切酶识别的酶切位点;在第603碱基处也发现了一个G到A的替换,导致了一个被Pst I内切酶识别的酶切位点。同时计算了在44只鸡群体中的各自等位基因和基因型的频率,并提出FASN是脂肪性状的候选基因。

欧阳建华等研究了FASN基因最后1个内含子2个突变的多样性,并运用资源参考家系研究了这2个突变对鸡体重、脂肪沉积性状的影响,结果表明:红色原鸡Hae-PCR-RFLP位点B基因频率为最高(0.85),泰和鸡及余干乌黑鸡为最低(0.21),品种间差异较大,但未发现肉用与蛋用鸡种间的差异;在PstI-PCR-RFLP位点上,A基因频率在崇仁麻鸡中表现为最高(0.50),在裸颈鸡为最低(0.19),品种间差异较小。Hae-PCR-RFLP位点表现为CC型个体体重最小,大部分阶段有显著性差异($P < 0.05$);PstI-PCR-RFLP位点表现为差异不显著。2位点合并基因型中,以BC/GG体重为最高,大部分阶段有显著性差异($P < 0.05$)。(3)Hae-PCR-RFLP位点表现为BB型,比其他基因型有更强的脂肪沉积能力($P < 0.05$),而PstI-PCR-RFLP位点不同基因型间未表现出脂肪沉积能力的差异,合并基因型中以BB/GG脂肪沉积能力最强($P < 0.05$)。2位点在脂肪沉积和体重上均表现一定的互作效应^[12]。

4.3 牛 Roy等研究了FASN基因的多态性及其与牛乳脂含量的关系,研究了两个牛品种FASN基因的多态性,通过序列分析发现几个单核苷酸多态(SNPs),并且对其中的两个多态性进行了分析,其中一个是在外显子1处的G到C的颠换(g.763G>C),从而改变了一个潜在的Sp1转录因子结合位点;另一个是在外显子34处的A到G的转换(g.16009A>

(下转第3578页)

山东省沾化县泊头镇姜家窑村正值旗叶露尖前后的80 hm²小麦,遭受了重雹灾,80%~100%的麦株被砸断,有的地块只剩10 cm左右的残茎。5月9日调查,雹灾后由潜伏的分蘖芽生长成穗,一般只有3片叶和3节伸长节间,孕穗的叶片短、窄,茎生1叶长仅有1.3~1.5 cm,未孕穗的叶片较长,茎生1叶长7.0~22.0 cm。这是因为孕穗的,雹灾后潜伏的分蘖芽出土较早,不良的环境条件对其生长不利所致^[5]。小麦的地上茎一般有5个伸长节间,在早播和肥水充足的条件下,主茎和早生的大蘖也有6节的;反之,在肥水不足和高级位的分蘖只有4节,而在极特殊的条件下则只有3节。

3 讨论

(1) 冬小麦叶片窄短上冲品种,主茎叶片露尖所需要的时间:年前气温较高时需要2~3 d,气温低时20 d以上,平均早播、适期上限播、适播、适期下限播种大于6 d小于8 d;晚播种大于9 d小于10 d;年后短的4~5 d,最长的30 d左右,平均大于9 d小于等于11 d;两年相邻,短的80 d以上,最长的100 d以上,过晚播种的60 d左右。主茎叶片露尖所需要的积温:年前最少积温<50,最多积温早播的130左右,晚播的110左右,平均积温早播的80左右、适期上限播种的75左右、适期播种70左右、适期下限播种65左右、晚播的60左右;年后最少积温<50,最多积温120左右,晚播种130左右;平均积温,早播、适期上限播种的80左右,适期播种85左右,适期下限播种90左右。

(上接第3560页)

Q,从而确定了一个非保守的丙氨酸替代苏氨酸改变^[13]。利用等位基因特异性扩增(Allele specific amplification,ASA)方法对上述两个SNPs在具有高和低的乳脂含量育种值的荷斯坦奶牛中进行了扩增,在两个多态性中具有显著的不同。对由外显子1(等位基因G和Q)和外显子34(等位基因A和Q)组成的单倍型的多态性进行了研究,并在这些SNPs之间发现了连锁不平衡的存在。所以Roy等认为FASN基因是乳脂含量QTL的一个候选基因。

Chris等^[14]通过连锁分析对在牛19号染色体上QTL进行了鉴定,认为FASN是这个QTL的候选基因,并检测到了5个SNPs,并在3个不同的牛群体中对SNPs进行了基因分型,通过相关分析表明,FASN基因的SNPs与脂肪和乳脂相关。

5 结束语

随着遗传和分子生物学的迅速发展,人们对脂肪酸合成酶的生理功能及作用的研究已取得重要进展,对脂肪酸合成酶基因及其基因表达调控的研究不仅具有重要的理论意义,而且还具有广泛的应用前景。通过控制脂肪酸合成酶基因转录,细胞RNA的处理,控制RNA稳定性及其翻译水平调节基因表达,有效地控制脂肪在机体内的合成、沉积,生产能满足人们生活水平要求的高瘦肉率、低脂肪的鸡肉、猪肉,也可用于人的减肥;通过促进脂肪合成、沉积来生产肥肝。相信在不久的将来,对脂肪酸合成酶基因及其基因表达调控的研究必将取得突破性进展。

参考文献

[1] MUNOZ G, OVILLO C, NOGUERA L, et al. Assignment of the fatty acid synthase

(2) 早播的幼穗分化开始时间早、经历时间长、发育好、小穗及小花数目多、穗粒数多,生育期早,特别是抽穗开花期早,灌浆开始气温较低、过程长,千粒重高;冬前主茎叶片数多、分蘖多、分蘖素质高、单株成穗多。因此,只要处理好播期与基本苗的关系,保证群体得到合理发展,个体得到健壮发育,就能获得高产。早播上限,个体在越冬前能自由发展条件下,年前主茎叶片数为11叶1心。

(3) 晚播与过晚播种的幼穗分化开始时间晚、经历时间短、发育差、有效小穗及小花数目少、穗粒数少,生育期晚、抽穗开花期推迟,灌浆期易遇高温和干热风危害、过程短,千粒重低。因此,晚播小麦,只有达到甚至突破适期播种的穗数高限,才能创出高产。在高产栽培条件下,冬前主茎3叶1心~4叶1心的晚播麦,除主茎与第1子蘖成穗外,还应利用第2子蘖成穗;冬前主茎1叶1心~2叶1心的晚播麦,除主茎成穗外,也应利用第1子蘖成穗;冬前针叶的过晚播种小麦,只可依靠主茎成穗。

参考文献

- [1] 中国农业科学院. 小麦栽培理论与技术[M]. 北京: 农业出版社, 1979: 263, 262, 68~69, 56.
- [2] 余松烈. 山东小麦[M]. 北京: 农业出版社, 1990: 276, 203, 72.
- [3] 孙本普. 地膜覆盖晚播小麦穗分化的特点及其与露地麦异同点的分析[J]. 中国农业科学, 1991, 24(1): 47-54.
- [4] 孙永年, 孙本普, 唐宁, 等. 不同穗型高产冬小麦产量构成因素探析[J]. 华北农学报, 2002, 17(S): 178-181.
- [5] 孙本普. 重雹灾对小麦生长发育的影响及补救[J]. 国外农学-麦类作物, 1999, 19(5): 77-79.
- [6] (FASN) gene to pig chromosome 12 by physical and linkage mapping[J]. *Animal Genetics*, 2003, 34: 234-235.
- [7] ROY R, GAUIER M, HAYES H, et al. Assignment of the fatty acid synthase (FASN) gene to bovine chromosome 19(19q22) by in situ hybridization and confirmation by somatic cell hybrid mapping[J]. *Cytogenet Cell Genet*, 2001, 93: 141-142.
- [8] MATTHEW H, CHRALA S, WAKIL S J. Human fatty acid synthase gene[J]. *J Biol Chem*, 1996, 271: 13584-13592.
- [9] KAMEDA K, GOODRIDGE A G. Isolation and partial characterization of the gene for goose fatty acid synthase[J]. *J Biol Chem*, 1991, 266: 419-426.
- [10] CHRISTOPHER MA, BRENDA WA, NAGGERT J. Intron exon organization of the gene for the multifunctional animal fatty acid synthase[J]. *Proc Natl Acad Sci*, 1992, 89: 1105-1108.
- [11] 熊文中, 杨凤, 周安国. 猪重生长激素对不同杂交肥育猪脂肪代谢调控的研究[J]. 畜牧兽医学报, 2001, 32(1): 1-4.
- [12] 单体中, 汪以真, 刘建新, 等. 不同日龄猪腹脂中脂肪酸合成酶(FAS)基因表达规律的研究[J]. 畜牧兽医学报, 2006, 37(7): 662-666.
- [13] 陈杰, 杨晓静, 佟辉, 等. FAS和HSL mRNA及其与肌内脂在猪背最长肌的表达脂肪含量的关系[J]. 农业生物技术学报, 2004, 12(4): 422-423.
- [14] DOUARE M, LEFUR N, EKHADIR MOUNIER C, et al. Identifying genes involved in variability of genetic fitness in the growing chicken[J]. *Poultry Sci*, 1992, 71: 1911-1920.
- [15] SOURICOUX M, BREVELET C, DELABROSSE Y, et al. Association of fatty acid synthase gene and malic enzyme gene polymorphisms with fatness in turkey[J]. *Poultry Sci*, 1999, 78: 1651-1657.
- [16] GRACIELA MARRUBE, FELISA ROZEN, GABRIEL BERNARDO PINTO, et al. New polymorphism of FASN gene in chicken[J]. *J Appl Genet*, 2004, 45: 453-455.
- [17] 欧阳建华, 谢亮, 刘杰, 等. 鸡FASN基因2个位点的多样性及其与体重、脂肪沉积性状的相关性[J]. 畜牧兽医学报, 2007, 38(1): 25-30.
- [18] ROY R, ORDOVAS L, ZARAGOZA P, et al. Association of polymorphisms in the bovine FASN gene with milk fat content[J]. *Animal Genetics*, 2006, 37: 215-218.
- [19] CHRIS A, MORRIS, NEIL G, et al. Fatty acid synthase effects on bovine adipose fat and milk fat[J]. *Mammalian Genome*, 2007, 18: 64-74.