

# *H-FABP* 不同基因型对滇南小耳猪脂肪分解代谢相关基因表达的影响

江佳伟, 黄英, 杨明华, 潘洪彬, 高士争, 赵素梅\*

(云南农业大学 云南省动物营养与饲料重点实验室, 昆明 650201)

**摘要:** 本研究旨在探讨不同 *H-FABP* 基因型滇南小耳猪肌内脂肪细胞脂类代谢相关基因的表达及其与肌内脂肪细胞甘油三酯(Triglycerol, TG)含量的相关性。本研究利用试剂盒测定肌内脂肪细胞 TG 含量, 采用 RT-qPCR 检测肌内脂肪细胞脂类分解代谢基因 mRNA 表达水平。结果显示: HH 基因型个体的脂类分解代谢相关基因肉碱脂酰转移酶 1(Carnitine palmitoyl transferase 1, CPT-1)、脂蛋白酯酶(Lipoprotein lipase, LPL)和过氧化物酶体增殖物激活受体  $\gamma$ (Peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$ , PPAR $\gamma$ ) 3 种基因 mRNA 表达水平均显著高于 hh 基因型个体( $P < 0.05$ ); 且 CPT-1、LPL、PPAR $\gamma$  基因 mRNA 的表达量与肌内脂肪细胞 TG 含量呈正相关。不同 *H-FABP* 基因型影响滇南小耳猪肌内脂肪细胞中脂肪分解代谢相关基因的表达, HH 基因型猪脂肪分解代谢相关基因的表达量较高, 可能脂类代谢活动更强, 从而相对增加了肌内脂肪沉积。

**关键词:** *H-FABP* 基因型; 肌内脂肪; 脂肪分解代谢; 基因表达

中图分类号: S828; S813.3

文献标志码: A

文章编号: 0366-6964(2013)06-0837-06

## Expression of Lipid Catabolism Genes in Diannan Small-ear Pigs with Different *H-FABP* Genotypes

JIANG Jia-wei, HUANG Ying, YANG Ming-hua, PAN Hong-bin, GAO Shi-zheng, ZHAO Su-mei\*

(Yunnan Key Laboratory of Animal Nutrition and Feed Science, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

**Abstract:** This study aimed to investigate the expression of the lipid metabolism related genes, and the association between the lipid metabolism related genes and triglyceride(TG) content in intramuscular fat cells of Diannan Small-ear pigs with different *H-FABP* genotypes. The kit was used to determine the triglyceride(TG) content and to investigate the level of mRNA expression of lipid catabolism genes by reverse transcription quantitative real-time PCR(RT-qPCR). The results showed that significantly higher expression levels of carnitine palmitoyl transferase 1(CPT-1), lipoprotein lipase(LPL) and peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$ (PPAR $\gamma$ ) mRNA were found in the HH genotype individuals comparing with that in hh genotype individuals( $P < 0.05$ ). The expression levels of CPT-1, LPL, PPAR $\gamma$  genes and TG content in intramuscular adipocytes were positively correlated. The expression of fat catabolism related genes in Diannan Small-ear pigs with different *H-FABP* genotypes is discrepant, the expression level of the pig with HH genotype is higher. As the lipid metabolic activity is stronger, this may increase intramuscular fat deposition relatively.

**Key words:** *H-FABP* genotype; IMF; lipid catabolism; gene expression

收稿日期: 2012-10-09

基金项目: 国家自然科学基金(31060331); 云南省自然科学基金项目(2009CD056)

作者简介: 江佳伟(1988-), 男, 湖北天门人, 硕士生, 主要从事动物分子营养与代谢调控的研究, E-mail: jiangjiawei0610@126.com

\* 通信作者: 赵素梅, Tel: 0871-5227796, Fax: 0871-5227284, E-mail: zhaosm2009@126.com

肌内脂肪(Intramuscular fat, IMF)是影响肉质性状的主要因素,研究表明,提高 IMF 含量可以增加肉的嫩度和风味,对肌肉组织的感官品质、食用品质、加工及储藏性能等均有重要的影响<sup>[1-3]</sup>。肌内脂肪实质就是肌内脂肪细胞中的甘油三酯(Triglycerol, TG),其含量受肌内脂肪细胞中脂肪合成与分解代谢的调控<sup>[4]</sup>。

心型脂肪酸结合蛋白(Heart-type fatty acid binding protein, H-FABP)主要在心肌、骨骼肌和乳腺组织中表达,参与细胞内脂肪酸运输,将脂肪酸从细胞膜上运到脂肪酸氧化和甘油三酯及磷脂的合成位置, *H-FABP* 是目前公认的肌内脂肪沉积的候选基因。研究表明,有些猪 *H-FABP* 基因存在 *Msp* I、*Hae* III 和 *Hinf* I 3 个多态位点,这些多态位点与 IMF 含量存在相关性<sup>[5-6]</sup>。W. H. Lin 等<sup>[7]</sup>研究了 10 个品种猪 *H-FABP* 基因的多态性,结果在 6 个中国本地猪种中发现只有 *Hinf* I 多态位点,而没有 *Msp* I 和 *Hae* III 多态性位点<sup>[7]</sup>。S. M. Zhao 等<sup>[8]</sup>深入研究了不同 *H-FABP* 基因型乌金猪 IMF 沉积存在差异的分子机制,结果表明,肌肉组织中 *H-FABP* *Hinf* I HH 基因型脂类合成代谢相关基因 mRNA 含量和蛋白质表达水平显著高于其他基因型,其 IMF 含量也较高<sup>[8]</sup>。但由于肌内脂肪主要存在于肌内脂肪细胞中,因此有必要针对肌内脂肪细胞,探讨不同 *H-FABP* 基因型肌内脂肪沉积的分子机理。

线粒体膜上的肉碱脂酰转移酶(Carnitine palmitoyl transferase, CPT)能催化脂酰基在肉碱和辅酶 A 之间的转移反应,CPT-1 是脂酰辅酶 A 转入线粒体中进行脂肪酸  $\beta$ -氧化的限速酶<sup>[9]</sup>;脂蛋白脂酶(Lipoprotein lipase, LPL)是脂质代谢中的关键酶,可水解极低密度脂蛋白和乳糜微粒中的甘油三酯,使之转变成相对分子质量较小的脂肪酸,以供各种组织贮存和利用<sup>[10]</sup>;过氧化物酶体增殖物激活受体  $\gamma$ (Peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$ , PPAR $\gamma$ )是一类由配体激活的核转录因子,属于细胞核受体超家族的成员,PPAR $\gamma$  不仅参与脂代谢相关基因的表达调控,调节脂类代谢,同时在控制脂肪储存和释放、维持机体能量平衡和调节胰岛素抵抗等方面有重要作用<sup>[11]</sup>。

滇南小耳猪是云南优良地方猪种,具有肌内脂肪含量高,肉质鲜美的特性<sup>[12]</sup>,但有关其肌内脂肪沉积的机理研究较少。本研究以滇南小耳猪为研究

对象,采用 RT-qPCR 方法检测不同 *H-FABP* 基因型猪肌内脂肪细胞脂类分解代谢相关基因的表达水平,分析其与肌内脂肪细胞 TG 含量的相关性,从分子水平阐明滇南小耳猪肌内脂肪细胞 TG 合成的分子机制,为进一步研究滇南小耳猪肌内脂肪沉积提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

本实验室前期研究选取了 100 头出生体重相近、遗传背景相近、公母各半的滇南小耳猪,分别编号,饲喂玉米—豆粕型配合日粮,自由饮水(饲料组成和营养水平见表 1)。用抗凝管从猪的前腔静脉采血 15 mL,从全血中提取基因组 DNA,利用 PCR-RFLP 方法(限制性内切酶 *Hinf* I 酶切 PCR 产物)检测各样品的 *H-FABP* 基因型,获得分别为 HH、Hh、hh 的 3 种基因型。在体重为 60 kg 左右时,选择每个基因型中的 8 头猪,屠宰取背最长肌肌肉组织样,放入含有 PBS 和双抗的 50 mL 离心管中。

### 1.2 肌内脂肪细胞的分离

肌内脂肪细胞分离按照文献<sup>[13]</sup>报道的方法进行。具体为,将背最长肌(10 g)分离并去除粘连组织,在消化缓冲液中消化( $2 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$  组织),缓冲液配方为  $\text{M199} + 2 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  小牛血清和  $2 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  胶原酶 II,水浴  $37 \text{ }^\circ\text{C}$  摇匀消化 2 h。用 200 和 100 目  $25 \mu\text{m}$  的尼龙滤网过滤分离细胞。滤出的细胞用 DMEM/F12 漂洗,然后  $1\ 500 \times g$  离心 10 min。用密度梯度离心的方法纯化滤液中的肌内脂肪细胞。一部分保存于  $-80 \text{ }^\circ\text{C}$  冰箱,用于 RNA 提取;一部分用于 TG 含量测定。

### 1.3 总 RNA 的提取

使用 TRIzol-A<sup>+</sup> Reagent(北京天根生化科技有限公司)分别提取不同 *H-FABP* 基因型样本肌内脂肪细胞总 RNA<sup>[14]</sup>。提取的总 RNA 通过琼脂糖凝胶电泳检测其完整性,通过  $\text{OD}_{260 \text{ nm}}/\text{OD}_{280 \text{ nm}}$  测定其浓度。RNA 储存在  $-80 \text{ }^\circ\text{C}$  冰箱中待用。

### 1.4 反转录

根据所测的浓度,取  $2 \mu\text{g}$  总 RNA 为模板,使用 EasyScript First-Strand cDNA Synthesis SuperMix(北京全式金生物技术有限公司)进行反转录,体系为  $20 \mu\text{L}$ 。反应条件: $42 \text{ }^\circ\text{C}$  反转录 30 min,  $85 \text{ }^\circ\text{C}$  加热 5 min 以使反转录酶失活。反转录后的 cDNA 于  $-20 \text{ }^\circ\text{C}$  保存。

表 1 日粮组成和营养水平

Table 1 Composition and nutrient levels of trial diets		%	
日粮组成 Composition	15-30 kg	30-60 kg	
玉米 Corn	57.36	56.28	
小麦麸 Wheat bran	22.44	26.55	
豆粕 Soybean meal	15.80	13.47	
鱼粉 Fish meal	1.30	1.00	
石粉 Limestone	0.65	0.88	
磷酸氢钙 CaHPO <sub>4</sub>	0.96	0.38	
赖氨酸 Lys	0.19	0.14	
复合预混料 Premix	1.00	1.00	
食盐 NaCl	0.30	0.30	
合计 Total	100.00	100.00	
营养水平 Nutrient level			
消化能/(MJ·kg <sup>-1</sup> ) DE	12.58	12.08	
粗蛋白 CP	13.88	12.13	
粗纤维 CF	3.61	4.28	
钙 Ca	0.60	0.55	
磷 P	0.55	0.46	
赖氨酸 Lys	0.87	0.67	
蛋+胱氨酸 Met+Cys	0.50	0.41	
苏氨酸 Thr	0.58	0.49	
色氨酸 Trp	0.15	0.12	

复合预混料组成: ZnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O 2.8%, MnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O 2.74%, FeSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O 4.03%, CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 6.00%, KI 0.46%, Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> 0.65%, VA 0.01%, VD<sub>3</sub> 0.01%, VE 0.44%, VK 0.01%, VB<sub>1</sub> 0.01%, VB<sub>2</sub> 0.03%, 泛酸 0.08%, 烟酸 0.10%, VB<sub>12</sub> 0.05%, 生物素 0.15%, 叶酸 0.01%, 胆碱 8.0%, 沸石粉 74.42%。消化能为计算值, 其他值为测定值  
Premix composition: ZnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O 2.8%, MnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O 2.74%, FeSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O 4.03%, CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 6.00%, KI 0.46%, Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> 0.65%, VA 0.01%, VD<sub>3</sub> 0.01%, VE 0.44%, VK 0.01%, VB<sub>1</sub> 0.01%, VB<sub>2</sub> 0.03%, pantothenic acid 0.08%, nicotinic acid 0.10%, VB<sub>12</sub> 0.05%, biotin 0.15%, folic acid 0.01%, choline 8.0%, carrier 74.42%。DE is calculated value, while other nutrient levels are measured values

### 1.5 RT-qPCR

所有基因的引物使用 Primer 5 软件设计, 目的基因和内参基因(18S rRNA)的引物序列根据 GenBank 上猪的基因序列设计。反应体系为 20 μL; 模板 cDNA 1 μL、上游引物和下游引物(表 2)各 0.4 μL、SYBR Green I 10 μL、DEPC 处理水 8.2 μL。RT-qPCR 条件优化, 反应程序为: 95 °C 预变性 30 s; 95 °C 变性 5 s, 退火 30 s, 72 °C 延伸 30 s, 共 40 个循环; 最后 72 °C 延伸 10 min。CPT-1、LPL 和

PPARγ 退火温度分别为 60、55 和 55 °C。

将 RT-qPCR 产物用柱式 DNA 胶回收试剂盒(上海生工生物工程有限公司)回收纯化。将回收得到的目的片段进行 10 倍梯度的稀释, 共 8 个梯度, 制备定量标准品。检测稀释效果, 要求标准曲线相关系数  $R > 0.99$ 。相对表达量的分析以 18S 基因作为内参基因, 通过参照基因表达水平校正待测样本中目标基因的相对表达量。然后将各样品的 Ct 值与标准曲线进行比较得出其起始模板拷贝数, 将此结果保存并输入到 Excel 表中进行后续分析。

### 1.6 TG 含量测定

用甘油三酯试剂盒(北京北化康泰临床试剂有限公司)测定肌内脂肪细胞中的甘油三酯浓度, 操作方法严格按照试剂盒说明书执行。

### 1.7 数据分析

试验结果用方差分析(LSD 检验)进行显著性检验, 相关分析使用 Pearson 检验。

## 2 结果

### 2.1 RNA 的提取

提取的总 RNA 通过 1% 琼脂糖凝胶电泳检测, 有清晰、完整的 3 条带(图 1), OD<sub>260 nm</sub>/OD<sub>280 nm</sub> 值为 1.8~2.0, 总 RNA 浓度较高, 达到 8.7~13.6 μg·μL<sup>-1</sup>(表 3), 符合逆转录要求。

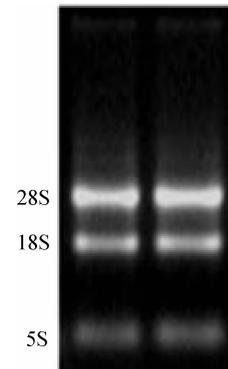


图 1 总 RNA 琼脂糖凝胶电泳

Fig. 1 Total RNA agarose gel electrophoretic analysis

### 2.2 不同 *H-FABP* 基因型样本 *CPT-1*、*LPL* 和 *PPARγ* 基因 mRNA 的表达量及 TG 含量

由图 2 可以看出, HH 基因型个体的 *CPT-1*、*LPL* 和 *PPARγ* 基因 mRNA 表达量及 TG 含量均为最高, Hh 基因型个体次之, hh 基因型个体最低。并且 HH 基因型个体的 *CPT-1* 基因 mRNA 的表

达量显著高于 hh 基因型个体 ( $P < 0.05$ ); HH 和 Hh 基因型个体的 *LPL* 基因 mRNA 的表达量均显著高于 hh 基因型个体 ( $P < 0.05$ ); HH 基因型个体的 *PPAR $\gamma$*  基因 mRNA 的表达量显著高于 Hh 和

hh 基因型个体 ( $P < 0.05$ ), Hh 基因型个体也显著高于 hh 基因型个体 ( $P < 0.05$ ); HH 基因型个体肌肉内脂肪细胞 TG 含量显著高于 Hh 和 hh 基因型个体 ( $P < 0.05$ )。

表 2 PCR 引物参数

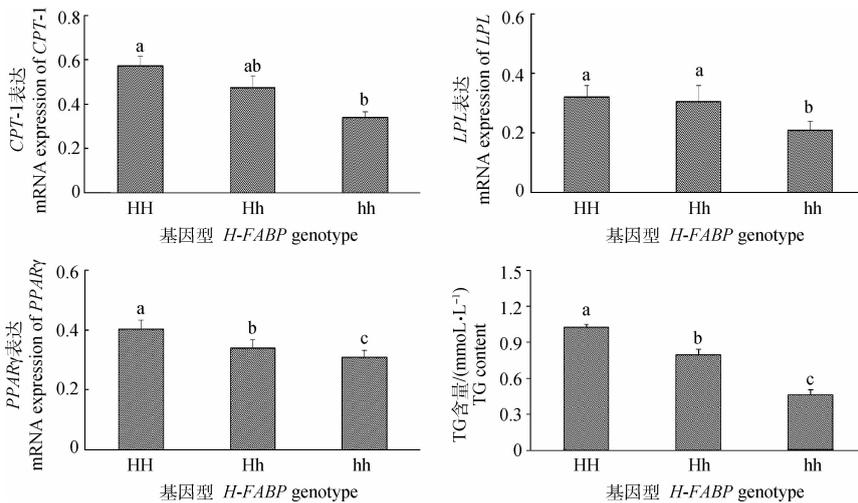
Table 2 Parameters of primer pairs used for PCR

基因名称 Gene name	引物序列(5'-3') Primer sequence	退火温度/℃ Annealing temperature	产物长度/bp Product length	GenBank 登录号 GenBank number
18S	F: GCGCCTTTGGTACTCTA	55	194 (608~802)	NR_046261.1
	R: CTGCCTCCTTGGATGTG			
<i>CPT-1</i>	F: ATGGTGGGCGACTAACT	60	321 (681~1 001)	AY181062
	R: TGCCTGCTGTCTGTGAG			
<i>PPAR<math>\gamma</math></i>	F: GATTTCTCCAGCATTTCCA	55	184 (270~453)	DQ437884
	R: GCTCTTCGTGAGGTTTGT			
<i>LPL</i>	F: AACTTGTGGCTGCCCTAT	55	367 (453~819)	X62984
	R: GACCTCTGGTGAATGTG			

表 3 总 RNA 浓度

Table 3 The concentration of total RNA

基因型 Genotype	样品数 Sample number	总 RNA 浓度/( $\mu\text{g} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ ) Concentration of total RNA								
HH	8	8.681	8.766	9.321	11.223	13.547	9.753	9.753	10.563	10.563
Hh	8	9.877	12.364	11.453	9.645	8.457	9.764	10.375	8.475	8.475
hh	8	9.375	10.467	13.647	10.364	9.478	9.732	12.836	11.674	11.674



图中的字母不同表示差异显著 ( $P < 0.05$ ), 相同则差异不显著 ( $P > 0.05$ )

Different letters in figure means significant difference between the treatments ( $P < 0.05$ ), same letter in figure means not significant difference between treatments ( $P > 0.05$ )

图 2 肌肉脂肪细胞中 *CPT-1*、*LPL* 和 *PPAR $\gamma$*  基因 mRNA 的表达量和 TG 含量

Fig. 2 mRNA expression of *CPT-1*, *LPL* and *PPAR $\gamma$*  and the content of TG in intramuscular adipocyte

### 2.3 *CPT-1*、*LPL* 和 *PPAR $\gamma$* 基因 mRNA 表达量与 TG 含量的相关性

由表 4 可以看出, *CPT-1*、*LPL* 和 *PPAR $\gamma$*  基因

的 mRNA 表达量与 TG 含量分别呈强、中度、强正相关关系 ( $r > 0.7$ ,  $0.3 < r < 0.7$ ,  $r > 0.7$ ); *CPT-1* 与 *LPL* 以及 *CPT-1* 与 *PPAR $\gamma$*  基因的 mRNA 的表达量

均存在强正相关关系( $r > 0.7$ ); *LPL* 与 *PPAR $\gamma$*  基因的 mRNA 表达量为中度正相关关系( $0.3 < r < 0.7$ )。

表 4 *CPT-1*、*LPL* 和 *PPAR $\gamma$*  基因 mRNA 表达量与 TG 含量的相关性

Table 4 Correlation between TG content and the *CPT-1*, *LPL* and *PPAR $\gamma$*  mRNA expression

	TG	<i>CPT-1</i>	<i>LPL</i>	<i>PPAR<math>\gamma</math></i>
TG	1			
<i>CPT-1</i>	0.803	1		
<i>LPL</i>	0.579	0.739	1	
<i>PPAR<math>\gamma</math></i>	0.851	0.743	0.593	1

$r > 0$  表示正相关。 $r < 0.3$  为弱相关;  $0.3 < r < 0.7$  为中度相关;  $0.7 < r < 1.0$  为强相关

$r > 0$  represents positive correlation.  $r < 0.3$  stands for weak correlation;  $0.3 < r < 0.7$  stands for moderate correlation;  $0.7 < r < 1.0$  stands for strong correlation

### 3 讨论

IMF 是沉积在肌肉内的脂类, 主要由 TG、膜脂(主要是磷脂)和胆固醇等组成, 其中, TG 占绝大多数<sup>[3,15-16]</sup>。国外猪种肌肉的 IMF 含量较低, 为 2% 左右<sup>[5]</sup>, 本研究所测滇南小耳猪背最长肌 IMF 含量在 6% 以上, 明显高于国外品种。并且 *H-FABP* 基因的纯合子 HH 基因型猪 IMF 含量最高, hh 基因型猪最低, 这与 S. M. Zhao 和 S. H. Lee 等<sup>[8,17]</sup> 的报道基本一致。

脂肪酸的分解代谢发生在线粒体基质中, 但长链脂肪酸必须在胞液中活化为脂酰辅酶 A, 并借助于一种小分子的脂酰基载体—肉碱来实现其转移。存在于线粒体膜上的 CPT, 催化乙酰基在肉碱和辅酶 A 之间的转移反应<sup>[18-19]</sup>。CPT 有 CPT1 和 CPT2 2 种抗原性不同的同工酶, 分别存在于线粒体内膜的外侧面与内侧面。位于线粒体外膜的 CPT-1 主要催化肉毒碱和乙酰辅酶 A 合成乙酰基肉碱, 而位于线粒体内膜的 CPT-2 则催化乙酰基肉碱和辅酶 A 反应释放乙酰辅酶 A<sup>[20-21]</sup>, 而 CPT-1 是脂肪酸氧化的限速酶。本研究的结果表明, *H-FABP* 基因 HH 基因型个体肌内脂肪细胞中 *CPT-1* 基因 mRNA 的表达量较高, 且与 TG 含量呈强正相关, 这可能是因为 *CPT-1* 基因的 mRNA 表达量升高, 促进乙酰基转化为乙酰基肉碱, 在 CPT-2 协同下释放乙酰辅酶 A, 乙酰辅酶 A 参与合成长链脂肪酸, 以甘油三酯的形式蓄积在细胞中, 增加 IMF 的沉积。

*LPL* 是脂质代谢中的关键酶。其主要功能是

水解极低密度脂蛋白 (Very low density lipoprotein, VLDL) 和乳糜微粒 (Chylomicron, CM) 中的 TG, 使之转变成相对分子质量较小的脂肪酸, 以供各种组织贮存和利用<sup>[10]</sup>。这一过程通常发生在肌肉和脂肪组织, 所有哺乳动物这 2 个组织中的 *LPL* 都能表现出很高的活性<sup>[22]</sup>。本研究结果表明, *H-FABP* 基因 HH 基因型个体肌内脂肪细胞中 *LPL* 基因 mRNA 的表达量较高, 且与 TG 含量呈中度正相关, 可能是由于 *LPL* 在血管内皮表面, 将血液循环运输来的 CM 和 VLDL 水解为 TG<sup>[23]</sup>。此外, *LPL* 还能控制肌内脂肪合成过程中脂肪和肌肉组织中 TG 的分配<sup>[24]</sup>。总之, *H-FABP* 基因 HH 基因型猪肌内脂肪细胞中高的 TG 含量可能是由于 *LPL* 通过调控肌肉组织中 TG 的含量而实现的。

*PPAR $\gamma$*  是 PPAR 家族中最具有脂肪专一性的亚型, 是体内脂肪形成的必需转录因子。*PPAR $\gamma$*  是一类由配体激活的核转录因子, 属于细胞核受体超家族的成员, 它与类维生素 A 类 X 受体形成异二聚体, 再结合于特异性 DNA 序列上而活化靶基因<sup>[25]</sup>。这些靶基因编码的蛋白参与脂肪细胞的分化和脂肪沉积。大部分 *PPAR $\gamma$*  的目标基因直接参与脂肪合成途径, 包括 *LPL*, 脂肪酸结合蛋白, 乙酰辅酶 A 合成酶和脂肪酸转运蛋白等。由于 *PPAR $\gamma$*  是一个调控脂肪代谢相关基因表达的转录因子, 大量的研究又证实 *PPAR $\gamma$*  基因在很多动物中与脂肪的分化有关, 因此该基因可能与猪 TG 的生成有关, 是影响 TG 的一个候选基因<sup>[26-28]</sup>。本研究结果表明, *H-FABP* 基因 HH 基因型猪肌内脂肪细胞中 *PPAR $\gamma$*  基因的 mRNA 表达量较高, 且与 TG 含量呈强正相关, 可能是由于 *PPAR $\gamma$*  活化编码参与脂肪细胞的分化和脂肪沉积的蛋白的靶基因, 间接增加 TG 的沉积。

*CPT-1* 是脂酰辅酶 A 转入线粒体进行脂肪酸  $\beta$ -氧化的限速酶; *LPL* 是脂质代谢中的关键酶; *PPAR $\gamma$*  是体内调控与脂肪代谢有关的基因表达的必需转录因子。*H-FABP* 基因 HH 基因型猪 *CPT-1*、*LPL* 和 *PPAR $\gamma$*  3 个基因 mRNA 的表达量显著高于 hh 基因型猪 ( $P < 0.05$ ); *CPT-1* 与 *LPL* 以及 *CPT-1* 与 *PPAR $\gamma$*  基因 mRNA 的表达量间均为强正相关, 这表明这些基因之间是相互联系, 共同参与肌内脂肪细胞中 TG 含量的调节, 具体可能是 *PPAR $\gamma$*  信号通路调控着 *CPT-1* 基因, 同时活化肌内脂肪细胞分化和脂肪沉积靶基因, 如促进 *LPL* 基因 mRNA 表达, 从而增加肌内脂肪细胞中 TG 含量。

总之, *H-FABP* 基因 HH 基因型猪 *CPT-1*、

*LPL* 和 *PPAR $\gamma$*  3 个基因 mRNA 表达水平均显著高于 hh 基因型猪 ( $P < 0.05$ ); 且 *CPT-1*、*LPL* 和 *PPAR $\gamma$*  基因 mRNA 的表达量与肌肉脂肪细胞 TG 含量呈正相关。本研究结果说明, 不同 *H-FABP* 基因型影响滇南小耳猪肌肉脂肪细胞中脂肪分解代谢相关基因的表达, HH 基因型猪脂肪分解代谢相关基因的表达量较高, 可能其脂类代谢活动更强, 从而相对增加了肌肉脂肪沉积。

### 参考文献:

- [1] 苗海明, 高爱武, 杨金丽, 等. 动物肌肉脂肪沉积对肉嫩度影响的研究进展[J]. 中国农学通报, 2012, 28(11): 51-54.
- [2] 刘建华, 贾光强, 冯定远, 等. 猪肌肉脂肪代谢与调控的研究[J]. 饲料研究, 2011, 2: 13-18.
- [3] 张宏宇, 单安山, 徐林, 等. 猪肌肉脂肪调控研究进展[J]. 东北农业大学学报, 2010, 41(2): 156-160.
- [4] 廉红霞, 高腾云, 傅彤, 等. 家畜肌肉脂肪代谢机制研究进展[J]. 江西农业学报, 2011, 23(5): 120-123.
- [5] 张陈华, 王阳, 丁月云, 等. 圩猪 *H-FABP* 基因多态性分析及其与 IMF 含量的相关性[J]. 中国农业科学, 2011, 5: 1063-1070.
- [6] 高妍, 张永宏, 姜宁, 等. 猪 *H-FABP* 基因遗传多态性及与肌肉脂肪含量的相关分析[J]. 中国兽医学报, 2008, 5(28): 599-603.
- [7] LIN W H, HUANG L S, REN J, et al. Research on genetic variation of heart fatty acid-binding protein gene in ten pig breeds[J]. *J Genet Genom*, 2002, 1(29): 12-15.
- [8] ZHAO S M, REN L J, GUO L, et al. Muscle lipid metabolism gene expression in pigs with different *H-FABP* genotypes[J]. *Livest Sci*, 2010, 128: 101-107.
- [9] DEBERARDINIS R J, LUM J J, THOMPSON C B. Phosphatidylinositol 3-kinase-dependent modulation of carnitine palmitoyltransferase 1A expression regulates lipid metabolism during hematopoietic cell growth[J]. *J Biol Chem*, 2006, 281: 37372-37380.
- [10] 王刚, 曾勇庆, 武英, 等. 猪肌肉组织 *LPL* 基因表达的发育性变化及其与肌肉脂肪沉积关系的研究[J]. 畜牧兽医学报, 2007, 3: 253-258.
- [11] BHATIA V, VISWANATAN P. Insulin resistance and PPAR insulin sensitizers[J]. *Curr Opin Invest Drugs*, 2006, 7(10): 891-897.
- [12] 和平. 滇南小耳猪[J]. 农家参谋, 2008, 9: 7.
- [13] LI W Z, ZHAO S M, HUANG Y, et al. Expression of lipogenic genes during porcine intramuscular preadipocyte differentiation[J]. *Res Vet Sci*, 2012, 93(3): 1190-1194.
- [14] 崔山佳, 罗明富, 张金玲. 家兔脂肪组织总 RNA 提取方法的比较[J]. 解剖科学进展, 2010, 16(1): 48-50.
- [15] 耿忠诚, 陈建华. 三江白猪 *H-FABP* 基因多态性和肌肉脂肪含量相关性分析[J]. 中国畜牧杂志, 2007, 15: 7-10.
- [16] 姜延志, 刘晓研, 李芳琼, 等. 猪 *H-FABP* 基因多态性及其与肌肉脂肪含量的相关研究[J]. 畜牧兽医学报, 2010, 41(7): 792-796.
- [17] LEE S H, CHOI Y M, CHOE J H, et al. Association between polymorphisms of the heart fatty acid binding protein gene and intramuscular fat content, fatty acid composition, and meat quality in Berkshire breed[J]. *Meat Sci*, 2010, 3(86): 794-800.
- [18] 曾景香. 猪肌肉脂肪沉积相关基因的 mRNA 表达及功能分析[D]. 泰安: 山东农业大学, 2011.
- [19] YAMANE T, KOBAYASHI-HATTORI K, OISHI Y. A high-fat diet reduces ceramide synthesis by decreasing adiponectin levels and decreases lipid content by modulating HMG-CoA reductase and *CPT-1* mRNA expression in the skin[J]. *Mol Nutr Food Res*, 2011, 55(2): S186-192.
- [20] 张艳芳. *CPT-1* 基因对猪脂肪沉积的影响及其调控机制的研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2010.
- [21] CONTI R, MANNUCCI E, PESSOTTO P, et al. Selective reversible inhibition of liver carnitine palmitoyl-transferase 1 by teglicar reduces gluconeogenesis and improves glucose homeostasis [J]. *Diabetes*, 2011, 60(2): 644-651.
- [22] 王刚. 猪 *LPL* 和 *HSL* 基因的遗传变异及其表达的发育性变化与肌肉脂肪关系的研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2006.
- [23] 廉红霞, 卢德勋, 高民. 猪生长肥育期背景最长肌 *LPL* 基因表达与肌肉脂肪含量相关研究[J]. 畜牧与兽医, 2007, 12: 17-20.
- [24] 高丽峰, 孙亚蒙, 刘娣. 五个品种猪脂蛋白脂酶 (*LPL*) 基因 PCR-RFLP 分析[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2011, 8: 54-55.
- [25] 朱凌燕, 刘建英. *PPAR $\gamma$*  基因研究进展[J]. 江西医药, 2011, 6(46): 572-575.
- [26] 龚兰, 金邦荃, 章熙霞, 等. 杂交山猪骨骼肌 *PPAR $\gamma$* 、*RAR $\alpha$*  基因与脂代谢关系的研究[J]. 食品科学, 2011, 32: 62-67.
- [27] 邵根宝, 贾超, 刘红林, 等. 与 *PPAR* 基因连锁的 5 个微卫星标记与猪肉品质性状的相关性[J]. 农业生物技术学报, 2006, 2: 162-165.
- [28] 高勤学, 李俊, 刘梅, 等. 猪 *PPAR* 基因多态性与脂肪性状相关的初步研究[J]. 江苏农业科学, 2004, 2: 60-62.