

DOI:10.14188/j.ajsh.2020.06.012

低温处理对异育银鲫腹部脂肪组织能量代谢相关基因表达的影响

李威^{1,2}, 贺江燕², 翟刚^{2,3}, 胡玉才¹, 殷战^{2,3*}

(1. 大连海洋大学, 辽宁 大连 116000; 2. 中国科学院水生生物研究所, 湖北 武汉 430070;
3. 中国科学院大学, 北京 100000)

摘要: 本文以异育银鲫为研究对象, 将其在 4 °C 水温条件下暂养 12 h, 研究其脂肪组织在低温环境下的基因表达变化。HE 染色切片和透射电镜拍照结果显示, 并未观察到由低温处理导致的组织学显著变化, 如明显的线粒体结构增多现象。利用 Western blot 分析手段, 检测了常温和低温处理异育银鲫腹部脂肪组织中的线粒体蛋白分子 COX IV 的表达水平, 发现经过低温处理, 异育银鲫脂肪组织中的线粒体蛋白 COXIV 略有增加。荧光定量 PCR 的结果显示, 在低温环境下, 异育银鲫腹部脂肪组织中的 *Cell Death Inducing DFFA Like Effector A (cidea)*, *Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1 alpha (pgc1)*, *Peroxisome Proliferator Activated Receptor Gamma (pparg)*, *Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-beta (ppargca1)*, *uncoupling protein 1 (ucp1)*, *uncoupling protein 2 (ucp2)* 和 *uncoupling protein 3 (ucp3)* 等基因的转录表达均出现了显著上调。这是首次证实鱼类腹部脂肪组织中的 UCP 分子均可以被低温诱导上调表达。

关键词: 低温处理; 脂肪; 异育银鲫; 基因表达

中图分类号: Q754

文献标识码: A

文章编号: 2096-3491(2020)06-0698-06

Effect of cold treatment on the expression of genes related to energy metabolism in abdominal adipose tissue of gible carp

LI Wei^{1,2}, HE Jiangyan², ZHAI Gang^{2,3}, HU Yucan¹, YIN Zhan^{2,3*}

(1. Dalian Ocean University, Dalian 116000, Liaoning, China;

2. Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430070, Hubei, China;

3. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100000, China)

Abstract: In the present study, cold treatment (4 °C for 12 hours) has been conducted on gibel carp (*Carassius auratus gibelio*), and no significant histological changes in gibel carp visceral adipose tissue (VAT) has been observed. To investigate the expression variation of genes related to energy metabolism, utilizing Western blot analysis, slightly elevated levels of mitochondrial protein COX IV in gibel carp VAT could be observed after cold treatment. In fact, the levels of the transcriptional expressions of *cidea*, *pgc1a/b*, *pparg*, *sirt3*, *ucp1*, *ucp2* and *ucp3* in the gibel carp VAT after cold treatment have been significantly elevated in real-time reverse transcriptase PCR test. These results indicates that the elevated lipid metabolism activities in gibel carp VAT can be induced by cold treatment.

Key words: cold treatment; fat; gibel carp; gene expression

收稿日期: 2020-07-31 修回日期: 2020-08-17 接受日期: 2020-08-24

作者简介: 李威(1995-), 男, 硕士生; 主要研究方向为鱼类分子内分泌学。E-mail: Mike15680921315@163.com

* 通讯联系人: 殷战(1965-), 男, 博士, 研究员; 主要研究方向为鱼类分子内分泌。E-mail: zyin@ihb.ac.cn

基金项目: 国家重点研发计划(2018YFD0900404)

引用格式: 李威, 贺江燕, 翟刚, 等. 低温处理对异育银鲫腹部脂肪组织能量代谢相关基因表达的影响[J]. 生物资源, 2020, 42(6): 698-703.
Li W, He J Y, Zhai G, et al. Effect of cold treatment on the expression of genes related to energy metabolism in abdominal adipose tissue of gible carp [J]. Biotic Resources, 2020, 42(6): 698-703.

0 引言

环境温度的变化会给生物生存带来显著影响。在哺乳动物中,一般由于维持体温的需求,不同的组织需要具有在低温下产生热的能力。多数的哺乳类动物具有有特性的褐色脂肪组织(brown adipose tissue, BAT),该组织可在交感神经对冷刺激的感知调节下,激发褐色脂肪组织的特征性蛋白——解偶联蛋白1(uncoupling protein 1, UCP1)的表达。这类褐色脂肪组织的解偶联蛋白表达于线粒体膜,可以允许质子重新回到细胞基质,使生物氧化产生的能量与ATP解除偶联,产生热能,从而维持机体体温。有研究发现,在哺乳动物中,包括白色脂肪组织(white adipose tissue, WAT)和褐色脂肪组织在内的动物脂肪组织均含有甘油三酯和脂肪粒,其脂肪酸可以作为产热反应的燃料来源^[1]。

尽管解偶联蛋白1被认为可作为哺乳动物生热反应的褐色脂肪组织的特征性蛋白,但解偶联蛋白1及其同源蛋白,如解偶联蛋白2、解偶联蛋白3等的类似同源编码基因,也在变温的脊椎动物,包括鱼类基因组中被发现^[2,3]。这些蛋白在鱼类组织中的发现表明在哺乳动物中的非颤抖式产热可能具有古老的进化历史。部分鱼类,如斑点月鱼(*Lampris guttatus*)也具有自身的产热机制,但总体而言,鱼类产热机制,尤其是与脂肪组织代谢之间的关系至今尚不明确。另外,尽管针对鱼类不同组织样本经过冷处理导致的基因表达的变化已有一些研究报道^[4,5],但却没有针对鱼类脂肪组织应对冷处理后的基因表达的研究报道。

异育银鲫(*Carassius gibelio*)作为一种变温动物,其内脏脂肪组织是体内功能的主要组织,直接影响其生长、代谢过程中的能量物质利用的平衡与分布状态,也与养殖鱼类的饲料利用效率直接相关^[6]。为了探索体内脂肪组织在低温处理后,是否会发生相应的脂肪代谢变化,以及其与已经报道的解偶联蛋白分子的转录本的表达是否也会因低温处理而影响,开展了低温处理对异育银鲫脂肪组织学特征、线粒体蛋白水平、组织能量代谢相关基因表达影响的初步研究。

1 材料与方法

1.1 试验材料

异育银鲫为水生生物研究所自行养殖野生型实验用鱼,养于研究所一号实验楼鱼房。

1.2 试验饲料

本实验喂养异育银鲫的饲料为血红虫。

1.3 低温处理方法

实验设低温处理组(4℃)和对照组(20℃)两个处理,将同样大小的10尾异育银鲫置于同等大小的养殖箱,进行常温和低温处理,并充氧。实验组置于4℃冷库房中,25 h后水温达到4℃。此时开始计时,12 h后收集脂肪组织样本。对照组则一直处于20℃水温中,并和实验组样本在同一个时间采集脂肪组织。试验期间不投喂食物。

1.4 脂肪组织切片观察

1.4.1 石蜡切片制作方法

新鲜的脂肪组织经多聚甲醛(paraformaldehyde, PFA)在室温条件下固定过夜后,在组织自动脱水机上经乙醇梯度脱水、二甲苯透化、透蜡。具体参数为:75%乙醇4 h;85%乙醇2 h;90%乙醇2 h;95%乙醇1 h;无水乙醇2次,每次30 min;无水乙醇加二甲苯(V:V为1:1)5~10 min;二甲苯2次,每次5~10 min;65℃融化石蜡3次,每次1 h。待石蜡凝固前将脂肪组织从脱水盒中取出按照包埋面的要求放入包埋框,于-20℃包埋机冷冻台冷却;待石蜡凝固后将蜡块从包埋框中取出修整,随后置于石蜡切片机上切片,片厚5 μm;切片漂浮于摊片机,在40℃温水环境中将组织展平,用载破片将组织捞起,并放进60℃烘箱内烤片。待水烤干石蜡烤化后取出常温保存备用。

1.4.2 苏木素-伊红染色(HE染色)

将石蜡切片依次放入二甲苯2次,每次20 min;无水乙醇2次,每次5 min;75%乙醇1次,5 min,最后用流水冲洗;再将切片放入苏木素染液3~5 min,流水冲洗,1%盐酸乙醇分化液分化30 s,流水冲洗,0.6%氨水返蓝,流水冲洗;将切片依次放入85%、95%的乙醇梯度脱水各5 min,放入伊红染液染5 min;染色完成后,将切片依次放入无水乙醇3次,每次5 min;二甲苯2次,每次5 min,直至透明。再将切片拿出晾干,用中性树胶封片即可。

1.4.3 透射电镜切片观察

取材后经3%戊二醛前固定,1%锇酸后固定1.5 h, PBS漂洗(pH 7.2)3次,70%酒精饱和醋酸铀染液块染,酒精-丙酮梯度脱水,环氧树脂618包埋剂包埋。超薄切片80 nm,醋酸铀、枸橼酸铅各染色5 min。在HT-7700型透射电镜下观察、摄片。

1.5 脂肪组织线粒体蛋白检测

1.5.1 脂肪组织中蛋白质的提取

①取出待裂解的脂肪组织,加入到1.5 mL离心

管中并称取重量,加入10倍重量的SDS蛋白裂解液;

②样品置于冰上并超声(10%功率,开4 s,停6 s)直至组织完全破碎;

③10 000 g离心10 min;

④吸取上清液到干净离心管中,取2 μ L测定蛋白质浓度,测浓度采用微量BCA蛋白质定量试剂盒(博士德AR1110);

⑤剩余部分加入蛋白质5 \times loading buffer,封上封口膜夹紧防爆夹,沸水浴7 min使蛋白质变性即可。

1.5.2 蛋白质免疫印迹分析

①将10 μ L样品加入新鲜配置的蛋白质凝胶孔中,在80 V电压下电泳至浓缩胶结束,再将电压调至120 V进行分离胶电泳;

②转膜:电泳结束后目的条带凝胶切下,覆盖上0.2 μ m孔径PVDF膜(PVDF膜需用甲醇激活1 min),上下各三层滤纸固定,再用夹板夹好,放入转膜电泳槽中,恒流200 mA在4 $^{\circ}$ C下电泳90 min;

③封闭:转膜结束后,取出PVDF膜,用TBST配置的5%脱脂奶粉溶液漂洗3次,每次10 min,再在室温下用TBST配置的5%脱脂奶粉封闭2 h;

④一抗孵育:将一抗按照使用说明书稀释(比例为1:1 000,用一抗稀释液),4 $^{\circ}$ C下在抗体孵育盒中孵育12~16 h;(所用一抗为鼠抗线粒体蛋白COX IV单克隆抗体,买自abcam公司,货号ab33985);

⑤漂洗:室温下用TBST溶液漂洗PVDF膜3次,每次15 min;

⑥二抗孵育:将二抗按照使用说明书稀释(比例为1:5 000,用二抗稀释液),室温下孵育2 h;(二抗为羊抗鼠辣根过氧化物酶标记的IgG抗体,购自Proteintech,货号SA00001-1);

⑦漂洗:室温下,用TBST漂洗3次,每次10 min;

⑧显色拍照:化学发光剂ImmobilonTM Westem Chemiluminescent HRP Substrate的 Peroxide Solution和Lunimol Ragent按照1:1(V:V)混合后加入到PVDF膜上,用化学发光成像仪检测拍照。

1.6 脂肪组织总RNA提取

常规Trizol法提取每一尾异育银鲫脂肪组织的总RNA,采用Trizol试剂(Invitrogen)按操作说明书提取脂肪组织总RNA。跑1%琼脂糖凝胶电泳和微量紫外分光光度计检测RNA的质量和浓度。样品贮存-80 $^{\circ}$ C备用总RNA的浓度要大于250 ng/ μ L, OD_{260 nm}/OD_{280 nm}介于1.8~2.2之间, OD_{260 nm}/OD_{230 nm}值应大于等于2.0,以确保RNA无降解,无污染。

1.7 定量PCR方法

用EasyScript One-Step gDNA Removal and

cDNA Synthesis SuperMix试剂盒提取cDNA,以Oligo(dT)为引物(1 μ L),取0.5~3.0 μ g样品,加适量RNase-free水至8 μ L,65 $^{\circ}$ C孵育5 min,冰浴2 min,后加入2 \times ES Reaction Mix(10 μ L)、EasyScript[®]RT/RI Enzyme Mix(1 μ L)和gDNA Remover(1 μ L),体系一共20 μ L,42 $^{\circ}$ C孵育15 min。获取的产物做荧光定量PCR。用transStart[®] Tip Green qPCR SuperMix试剂盒进行实验,反应体系为20 μ L,包含10 μ L的2 \times TransStart[®] Tip Green Real-Time qPCR SuperMix,2 μ L模板,0.2 μ mol/L引物和7.2 μ L的双蒸水,每个样品设置3个重复,反应程序按照说明书,并计算其相对表达值^[8]。所用到的试剂盒购自TransGen公司。

1.8 数据统计与分析

采用Excel软件对得到的荧光定量PCR产物的丰度进行二次回归分析。实验数据通过(平均值 \pm 标准差)来表示,通过Student-t test和one way ANOVA test来评估数据之间的差异性。

2 试验结果

2.1 低温处理后的异育银鲫腹部脂肪组织的组织学观察

图1显示的是对异育银鲫腹部脂肪组织进行HE染色切片观察结果,图片均由普通光学显微镜(40倍)下得到的异育银鲫腹部脂肪组织,其中红色部分是结缔组织,结缔组织周围大细胞是白色脂肪组织。图2显示的是腹部脂肪组织在透视电镜观察的结果,电镜下白色的部分是白色脂肪细胞,灰色部分是结缔组织。从超微显微观察的结果来看,并没有观察到典型的线粒体结构,表明暂无观察到相关特征性褐色脂肪组织,所观察到的脂肪细胞似乎均为白色脂肪组织和一部分结缔组织。

2.2 低温处理后的异育银鲫腹部脂肪组织的线粒体蛋白检测

对异育银鲫腹部脂肪组织进行线粒体蛋白COX IV表达水平的Western blot检测,结果显示,将冷处理前和冷处理后结果相比较,线粒体蛋白COX IV的Western blot相对表达含量在鲫鱼腹部脂肪组织中增高的趋势,但其相对表达含量的提高并不显著($P>0.05$),尚不足以显示出冷处理对鲫鱼脂肪细胞中的线粒体生成有显著地促进作用(图3)。

2.3 低温处理对异育银鲫腹部脂肪组织能量代谢相关基因表达的影响

依据我们进行的定量逆转录PCR反应的结果,我们发现Cell Death Inducing DFFA Like Effector

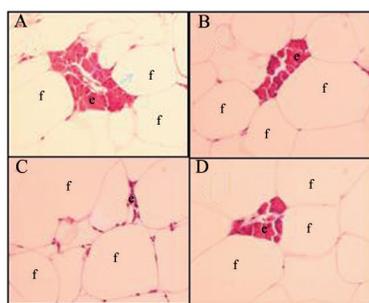


图1 异育银鲫腹部脂肪切片的HE染色观察

Fig. 1 The histological analysis of abdominal fat section of the crucian carp by HE staining

注:A和C,常温组腹部脂肪HE染色切片;B和D,低温组腹部脂肪HE染色切片;e,结缔组织;f,白色脂肪细胞

Note: A&C, abdominal fat sections by HE staining without cold treatment; B&D, abdominal fat sections by HE staining with cold treatment; e, connective tissue; f, white adipocyte

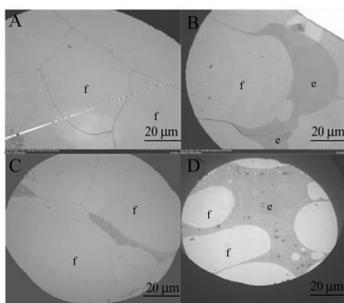


图2 异育银鲫腹部脂肪透射电镜观察

Fig. 2 TEM analysis of abdominal fat from the crucian carp

注:A,300倍视野下常温组鲫鱼腹部脂肪透射电镜图;B,300倍视野下低温组鲫鱼腹部脂肪透射电镜图;C,200倍视野下常温组鲫鱼腹部脂肪透射电镜图;D,200倍视野下低温组鲫鱼腹部脂肪透射电镜图;e,结缔组织;f,白色脂肪细胞

Note: A, TEM-image of abdominal fat in 300 times field of view, without cold treatment; B, TEM-image of abdominal fat in 300 times field of view, with cold treatment; C, TEM-image of abdominal fat under 200 times field of vision, without cold treatment; D, TEM-image of abdominal fat under 200 times field of vision, with cold treatment; e, connective tissue; f, white adipocyte

A(cidea), *Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1 alpha (pgc1)*, *Peroxisome Proliferator Activated Receptor Gamma (pparg)*, *Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1 - beta (ppargca1)*, *NAD - dependent protein deacetylase sirtuin-3 (sirt3)*, *ucp1*, *ucp2* 和 *ucp3* 这些基因的表达在低温处理之后,其在异育银鲫脂肪组织中转录表达显著上升,而 *cyp2r1* 在异育银鲫脂肪

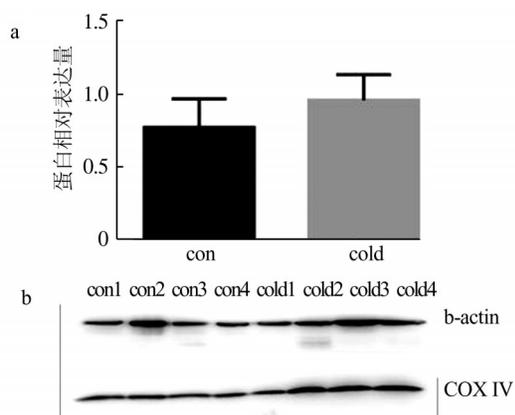


图3 线粒体蛋白 COX IV Western blot 表达量分析

Fig. 3 COX IV expression examined with Western blot

注:a,线粒体蛋白 COX IV Western blot 的相对表达量柱状图 ($P>0.05$);b,线粒体蛋白 COX IV 的 Western blot 结果;con1~con4 是对照组腹部脂肪组织;cold1~cold4 是实验组腹部脂肪组织

Note: a, the relative expression of mitochondrial protein COX IV Western blot ($P>0.05$); b, the results of mitochondrial protein COX IV Western blot; con1~con4, the abdominal adipose tissue of control group; cold1~cold4, abdominal adipose tissue of experimental group

组织中表达受低温处理的影响不显著。表1是本研究涉及到的基因及其编号,表2是本研究所用引物和引物编号。图4是异育银鲫腹部脂肪组织荧光定量PCR的mRNA表达,从图4可以得知,荧光定量PCR的结果中,*ucp3*,*ppargca1*,*cidea*在低温诱导下其mRNA含量显著上升;*ucp1*,*ucp2*,*pparg*,*pgc1*在低温诱导下其mRNA含量上升极其显著;而*cyp2r1*的表达量在低温处理中影响不显著。

表1 基因名称及编号

Table 1 Gene name and gene number

基因名	基因编号
<i>ucp1</i>	AC.No.AAS10175.2
<i>cyp2r1</i>	AC.No.XP_016357833.1
<i>ucp3</i>	AC.No.XP_016396245.1
<i>pparg</i>	AC.No.XP_016087080.1
<i>ppargca1</i>	AC.No.XP_016310875.1
<i>pgc1</i>	AC.No.XP_016391034.1
<i>sirt3</i>	AC.No.KTG05203.1
<i>cidea</i>	AC.No.XP_016129128.1
<i>ucp2</i>	AC.No.AAS10175.2

3 结论与讨论

鱼类是变温动物,在鱼类中的UCP分子被发现后,有报道称鲤脑组织中的UCP1表达可被低温诱

表2 本研究所用引物名称及其序列
Table 2 Primers used in this study

引物名称	引物序列
<i>ucp1</i>	F:TCGTTCCATCTTTCCTGCGG R:TTCTGTCAGATGTGTCCCGTG
<i>cyp2r1</i>	F:TGCTATTTAAACCCCGCCT R:TCACTGTGAGTCAGTGAACGA
<i>ucp3</i>	F:TGTTGGGCAGAGTTCCTGAG R:TGCCATGCGAATATGCAGTTTA
<i>pparg</i>	F:TGGCAGACCTGAGTTCTTTGT R:TCCTGTAGGTCCCTCGATGGG
<i>ppargca1</i>	F:AGTGATCTGAGTGCTCGTCG R:ACGCGGGGAGAGCAGTATAG
<i>pgc1</i>	F:CGAGCGCATCACAAGTGTAG R:GGAGACCCAGGTATGACAGC
<i>sirt3</i>	F:GCTCGAAAACTGTGCGGTA R:GCTTCCTCGGCAGGATAAGG
<i>cidea</i>	F:TGTGTCTCGAACTACAGAGCTT R:TGGGTGAGAAGAAAGTAGAAAGGAA
<i>ucp2</i>	F:GCCCAACATCACGAGGAACG R:GGAAGAGTGTCTGGCACGAGT

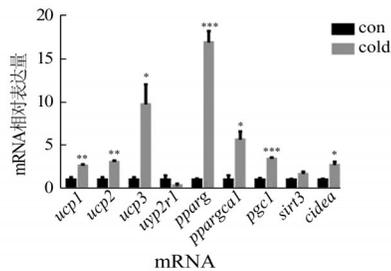


图4 荧光定量PCR 鲫鱼脂肪组织 mRNA 表达

Fig. 4 Adipose tissue mRNA expression of the crucian carp by real-time quantitative PCR

注: *表示在统计学上 $P < 0.05$, 被认为具有显著性差异;
**表示在统计学上 $P < 0.01$, 被认为差异极显著
Note: * indicates $P < 0.05$ and is considered to be statistically significant difference; ** indicates $P < 0.01$ and is considered to be extremely significant difference

导高表达, 而且其线粒体质子渗漏特征也与哺乳动物观察类似, 但其表达丰度较高的肝组织中的UCP1的表达却不能被低温诱导而出现增高的表达效果^[7]。也有分析表明虹鳟肌肉中的UCP2表达可受禁食影响, 而鲤和罗非鱼的UCP2表达则可为微囊藻毒素所诱导上调。由于鱼类似乎并不需要调节体温, 而且其UCP分子在多种组织中具有较高的天然表达能力, 因此, 一般推测, 鱼类的UCP分子可能具有产热之外的其他生理功能^[8]。

褐色脂肪组织是哺乳动物一种重要的产热并维持体温的组织, 主要通过消耗脂肪作为能量, 产生热

量。尽管对于鱼类耐低温性状, 已有一些研究报道, 但迄今为止, 尚未发现针对低温处理后的鱼类脂肪组织进行研究的报道。本研究利用养殖品种异育银鲫, 针对低温处理后的鱼类脂肪组织中的组织学、线粒体蛋白, 以及若干与哺乳动物褐色脂肪组织通过脂肪氧化产热相关的基因表达进行观察。

3.1 低温处理异育银鲫腹部脂肪组织学观察

通过对常温和低温处理下异育银鲫腹部脂肪组织进行常规切片和HE染色、透射电镜的对比观察, 并未观察到显著的低温处理导致的组织学变化, 如明显的线粒体结构的增多现象。这说明异育银鲫体内并没有出现由低温处理而产生典型的由白色脂肪组织向褐色脂肪细胞分化的现象。

3.2 低温处理后的异育银鲫腹部脂肪组织中线粒体蛋白水平

利用Western blot分析手段, 检测了常温和低温处理异育银鲫腹部脂肪组织中的线粒体蛋白分子COX IV的表达水平, 发现了经过低温处理, 异育银鲫脂肪组织中的线粒体蛋白COX IV有增加的趋势, 这预示着低温处理可以导致鱼类脂肪组织中的线粒体生成增加, 表明脂肪氧化活动在低温下可能得到增强。

3.3 低温处理对异育银鲫腹部脂肪组织中脂代谢相关基因的表达影响

经过低温处理, 我们发现异育银鲫腹部脂肪组织中的 *cidea*, *pgc1*, *pparg*, *ppargca1*, *ucp1*, *ucp2* 和 *ucp3* 等基因的转录表达均出现了显著上调。这是首次证实鱼类腹部脂肪组织中的UCP分子均可以被低温诱导上调表达。在哺乳动物的Cidea分子功能与促进脂肪组织增生有关, 尤其在小鼠中, *cidea* 不表达于白色脂肪组织, 仅表达于可以产热的褐色脂肪组织或是在由白色脂肪组织向褐色脂肪组织分化中的过渡期的脂肪组织中^[9]。PGC1是重要的脂肪氧化活动的正向调控分子, 包括PGC1a和PGC1b两种分子, 其中PGC1a最初便是因为其作为一种冷处理诱导的、可调控线粒体能量代谢的转录协同因子而被发现报道的, 而 *pgc1b* 的表达模式在许多哺乳动物中, 和 *pgc1a* 较为类似, 也主要在较高的氧化反应组织中, 例如褐色脂肪组织、心脏、肌肉等组织中高表达, 并与机体产热活动相关^[10,11]。参与脂肪氧化过程的 *Pparg* 的分子则被认为是哺乳动物褐色脂肪组织中的与产热代谢相关的标志性基因^[12]。SIRT3是哺乳动物褐色脂肪组织线粒体中表达的Sirtuin(长寿因子)的去乙酰酶, 可以促进 *pgc1* 的表达, 并可以通过对 *pgc1a* 表达的正反馈作用, 进一步

促进 *sirt3* 的表达,从而调控褐色脂肪组织中的线粒体功能,促进产热活性^[13]; SIRT3 也有报道发现可以通过其去乙酰化活性,调控褐色脂肪组织中的 UCP1 的上游调控的信号通路,从而调控褐色脂肪组织的产热过程^[14]。

总之,鱼类作为变温动物,其是否具有通过脂肪组织的氧化反应,并利用解偶联蛋白系列,使脂肪氧化活动所产生的能量,以质子泄漏的解偶联的形式,发生自主的产热活动,以起到部分的主动进行体温调节活动,目前尚未有证实。但作为低等脊椎动物,在其脂肪组织产热的进化进程中,由于已发现的鱼类存在系列 UCP 分子的表达,并具有其脂肪组织中 UCP 系列分子可受低温诱导的特性,辅以多种参与哺乳动物褐色脂肪组织的脂肪氧化产热的特征性基因表达发生了类似的低温诱导表达的特征,表明在变温动物的鱼类脂肪组织中,已具有受低温导致的脂肪代谢的某种形式的变化调节,暗示着鱼类具有一定的主动调节体温的能力,但由于我们尚未观察到褐色脂肪组织存在的组织学特征,未来有关鱼类 UCP 系列分子的具体生理功能机制,以及鱼类是否具有主动通过脂肪氧化产热的功能尚待进一步的深入研究。本研究主要针对养殖鱼内脏脂肪组织及低温处理而发生代谢变化进行研究,尽管养殖鱼类内脏脂肪组织一般并非消费饮食部分,但对其低温养殖条件下在代谢调控过程的深入了解将促进我们未来对养殖条件控制(如低温养殖条件的利用),调节鱼体脂肪含量、脂肪在组织中的分布,提升养殖鱼的饲料利用效率,以及养成鱼的口感和品质等具有指导意义。

参考文献

- [1] 陈冉, 李晓南. 棕色脂肪组织分化及调控的研究进展 [J]. 生理科学进展, 2016, 47(1):38-42.
Chen R, Li X N. Research progress on differentiation and regulation of brown adipose tissue [J]. Progress in Physiological Sciences, 2016, 47(1): 38-42
- [2] Stuart J A, Harper J A, Brindle K M, *et al.* Uncoupling protein 2 from carp and zebrafish, ectothermic vertebrates [J]. Biochim Biophys Acta, 1999, 1413(1): 50-54.
- [3] Jastroch M, Wuertz S, Kloas W, *et al.* Uncoupling protein 1 in fish uncovers an ancient evolutionary history of mammalian nonshivering thermogenesis [J]. Physiol Genomics, 2005, 22(2):150-156.
- [4] Vergauwen L, Benoot D, Blust R, *et al.* Long-term warm or cold acclimation elicits a specific transcriptional response and affects energy metabolism in zebrafish [J]. Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol, 2010, 157(2): 149-157.
- [5] Long Y, Song G, Yan J, *et al.* Transcriptomic characterization of cold acclimation in larval zebrafish [J]. BMC Genomics, 2013, 14: 612.
- [6] 胡雪锋, 李国富. 鲫鱼饲料中适宜的碳水化合物添加量 [J]. 畜牧与饲料科学, 2009, 30(3): 65-66.
Hu X F, Li G F. Appropriate carbohydrate addition in crucian carp feed [J]. Animal Husbandry and Feed Science, 2009, 30(3): 65-66
- [7] 王琳, 梁旭方, 李光照, 等. 鳊 *ucp1,2* 基因结构、序列分析及组织表达 [J]. 水产学报, 2009(6): 912-924.
Wang L, Liang X F, Li G Z, *et al.* Structure, sequence analysis and tissue expression of *ucp1,2* gene in *Siniperca chuatsi* [J]. J Fish China, 2009(6): 912-924
- [8] 梁旭方, 王琳, 马旭. 鱼类解偶联蛋白(UCP)基因研究新进展 [J]. 水产学报, 2008, 32(6): 965-970.
Liang X F, Wang L, Ma X. Recent research progress in fish uncoupling protein gene [J]. J Fish China, 2008, 32(6): 965-970.
- [9] Abreu-Vieira G, Fischer AW, Mattsson C, *et al.* Cidea improves the metabolic profile through expansion of adipose tissue [J]. Nat Commun, 2015, 6: 7433.
- [10] Miller K N, Clark J P, Anderson R M. Mitochondrial regulator PGC-1 α -modulating the modulator [J]. Curr Opin Endocr Metab Res, 2019, 5: 37-44.
- [11] Sonoda J, Mehl I R, Chong L W, *et al.* Evans RM. PGC-1 β controls mitochondrial metabolism to modulate circadian activity, adaptive thermogenesis, and hepatic steatosis [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2007, 104(12): 5223-5228.
- [12] ÁPolyák, Winkler Z, Kuti D, *et al.* Brown adipose tissue in obesity: fractalkine - receptor dependent immune cell recruitment affects metabolic-related gene expression [J]. Biochim Biophys Acta, 2016, 1861(11): 1614-1622.
- [13] Shi T, Wang F, Stieren E, *et al.* SIRT3, a mitochondrial sirtuin deacetylase, regulates mitochondrial function and thermogenesis in brown adipocytes [J]. Biol Chem, 2005, 280(14): 13560-13567.
- [14] Sebaa R, Johnson J, Pileggi C, *et al.* SIRT3 controls brown fat thermogenesis by deacetylation regulation of pathways upstream of UCP1 [J]. Mol Metab, 2019, 25: 35-49.

□

(编辑: 张丽红)