

不同H-FABP基因型滇南小耳猪脂类合成代谢 相关基因表达水平研究

李志娟 高士争 潘洪彬 黄 英 杨明华 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 肌内脂肪(intramuscular fat, IMF)是影响肉品质的重要因素, 其实质是肌内脂肪细胞中的甘油三酯, 而肌内脂肪细胞中的甘油三酯含量与脂肪代谢密切相关。该研究采用实时荧光定量PCR方法, 检测不同H-FABP基因型滇南小耳猪肌内脂肪细胞中脂类合成代谢相关基因的表达, 关联分析肌内脂肪细胞中脂类合成代谢基因的表达水平与甘油三酯含量的关系。研究表明: 滇南小耳猪在HaeIII-RFLP、MspI-RFLP位点均无多态性, 分别表现为DD、AA基因型; 在HinfI-RFLP位点具有多态性, 分别为HH、Hh、hh三种基因型。不同H-FABP基因型滇南小耳猪肌内脂肪细胞中甘油三酯的含量为: HH>Hh>hh。HH基因型的脂类合成代谢相关基因(*H-FABP*、*A-FABP*、*SCD*、*ACC*、*FAS*、*DGAT-1*) mRNA表达水平显著高于Hh、hh基因型($P<0.05$)。肌内脂肪细胞中*H-FABP*、*A-FABP*、*ACC*、*SCD*、*FAS*、*DGAT-1*基因的mRNA表达水平与甘油三酯含量呈显著正相关($P<0.01$)。总之, HH基因型滇南小耳猪肌内脂肪含量高可能是HH基因型脂类代谢相关基因的高表达水平引起的。肌内脂肪细胞脂类合成代谢相关基因mRNA表达水平与肌内脂肪细胞中甘油三酯含量呈显著正相关。

关键词 H-FABP基因型; 肌内脂肪细胞; 脂肪合成代谢; 基因表达; 甘油三酯

Expression of Lipogenic Genes in Diannan Small-ear Pigs with Different H-FABP Genotypes

Li Zhijuan, Gao Shizheng, Pan Hongbin, Huang Ying, Yang Minghua, Zhao Sumei*

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

Abstract The intramuscular fat (IMF) is the main factor affecting meat quality traits. In fact, intramuscular fat is triglycerol (TG) depositing in intramuscular adipocytes. The contents of TG were decided by the lipid metabolism. This study analyzed the expression levels of lipid synthesis metabolism related genes in Diannan small-ear pigs with different H-FABP genotypes using Real-time PCR, and measured the correlation between the content of TG and the expression levels of genes. The results showed that Diannan small-ear pigs had no polymorphism at HaeIII-RFLP, MspI-RFLP location, and displayed genotypes of DD, AA, respectively. Diannan small-ear pigs had polymorphism at HinfI-RFLP location, and displayed genotypes of HH, Hh, hh. The contents of TG in Diannan small-ear pigs with different H-FABP genotypes were HH>Hh>hh. The mRNA expression levels of lipogenic genes, including *H-FABP*, *A-FABP*, *SCD*, *ACC*, *FAS* and *DGAT-1* were significantly higher in HinfI PCR-RFLP HH genotypes than in other genotypes ($P<0.05$). The mRNA expression levels of *H-FABP*, *A-FABP*, *SCD*, *FAS*, *ACC*

收稿日期: 2012-12-18 接受日期: 2013-01-29

国家自然科学基金(批准号: 31060331)和云南省自然科学基金(批准号: 2009CD056)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0871-65227796, E-mail: zhaosm2009@126.com

Received: December 18, 2012 Accepted: January 29, 2013

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.31060331) and Natural Science Foundation of Yunnan Province (Grant No.2009CD056)

*Corresponding author. Tel: +86-871-65227796, E-mail: zhaosm2009@126.com

网络出版时间: 2013-04-27 13:37 URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20130427.1337.002.html>

and *DGAT-1* genes and the content of TG in intramuscular adipocytes had significant positive correlation ($P < 0.01$). In conclusion, the H-FABP genotypes affected the intramuscular fat content in Diannan small-ear pigs. The mRNA expression levels of lipogenic genes in intramuscular adipocytes and the content of TG in intramuscular adipocytes had significantly positive correlation.

Key words H-FABP genotype; intramuscular adipocytes; fat synthesis metabolism; gene expression; TG

肌内脂肪(intramuscular fat, IMF)含量影响着肉质的嫩度、多汁性及风味^[1-3]。肌内脂肪细胞中甘油三酯是肌内脂肪的重要组成成分。肌内脂肪细胞中甘油三酯含量取决于甘油三酯的合成与分解代谢间的动态平衡^[4-5]。脂类代谢是通过一系列的酶促反应完成的。在脂类合成过程中,乙酰辅酶A羧化酶(acetyl CoA carboxylase, ACC)、脂肪酸合成酶(fatty acid synthase, FAS)是脂肪酸从头合成过程的限速酶。ACC、FAS、硬脂酰CoA去饱和酶(stearoyl-CoA desaturase, SCD)等直接参与了调控脂肪酸及甘油三酯合成代谢相关酶基因的表达。二酰基甘油酰基转移酶(diacylglycerol acyltransferase, DGAT)是脂肪细胞中控制甘油三酯合成的核心酶,它在细胞脂类代谢中起着重要的作用。

心型脂肪酸结合蛋白(heart fatty acids binding protein, H-FABP)属于脂肪酸结合蛋白家族成员,位于猪6号染色体,是分子量为15 kDa的蛋白质,主要在心肌、骨骼肌和乳腺等组织表达,参与细胞内脂肪酸的运输,可将脂肪酸从细胞膜上运到脂肪酸氧化或甘油三酯及磷脂的合成位置,从而影响着肌内脂肪的沉积^[6-7],被认为是肌内脂肪的候选基因之一。研究发现,*H-FABP*基因在HinfI-RFLPs、HaeIII-RFLPs、MspI-RFLPs位点具有不同的基因型^[8],且本课题组的前期研究表明,不同H-FABP基因型乌金猪肌肉组织中脂类代谢相关基因调控着肌内脂肪的沉积^[9]。而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制。

滇南小耳猪是云南优良地方猪种,具有肌内脂肪含量高、肉质鲜美等性状。本研究以滇南小耳猪为研究对象,首先分析滇南小耳猪H-FABP基因型。在此基础上,比较不同H-FABP基因型滇南小耳猪肌内脂肪细胞中脂类合成代谢相关基因的mRNA表达水平,并分析肌内脂肪细胞中脂类合成代谢相关基因的mRNA表达水平与肌内脂肪细胞中甘油三酯含量的相关性。该研究为*H-FABP*基因作为猪肌内脂

肪沉积的候选基因用于分子育种提供了理论依据。

1 材料与方法

1.1 提取DNA及*H-FABP*基因的扩增及多态性分析

选取体重60 kg左右的云南省地方品种滇南小耳猪商品猪100头,自由采食,自由饮水。用抗凝管从猪的前腔静脉采血15 mL, $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存。用全血DNA提取试剂盒(爱思进生物技术有限公司)提取血中的全基因组DNA。获得全基因组DNA,利用Gerbens等^[8]的PCR-RFLPs分析方法对滇南小耳猪的*H-FABP*基因进行PCR-RFLPs分析。

1.2 肌肉采样和肌内脂肪细胞的分离

选择每个基因型中的30头滇南小耳猪,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。利用酶消化法(胶原酶II)分离肌内脂肪细胞^[5],一部分肌内脂肪细胞 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存,用于RNA提取;另一部分肌内脂肪细胞用于甘油三酯含量测定。

1.3 RNA的提取及反转录

用TRIzol(天根生化科技有限公司)法提取上述细胞中的总RNA,提取的总RNA通过琼脂糖凝胶电泳检测其完整性,并测定其浓度。根据所测的浓度,取2 μg 总RNA进行反转录,反转录后的cDNA于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存,用于实时定量PCR。

1.4 实时定量PCR

所有基因的引物使用Primer 5软件设计,目的基因和内标基因(18S rRNA)的引物序列根据GenBank上猪的基因序列设计,引物登陆号及引物序列见表1。实时定量反应体系为20 μL :模板cDNA 1 μL 、上下引物各0.4 μL 、SYBR Green I 10 μL 、DEPC处理水8.2 μL 。反应条件为:95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性30 s;95 $^{\circ}\text{C}$ 变性5 s,退火30 s,72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸30 s,共40个循环。*FAS*、*ACC*退火温度为56 $^{\circ}\text{C}$; *H-FABP*、*A-FABP*、*DGAT-1*退火温度为60 $^{\circ}\text{C}$; *SCD*退火温度为67 $^{\circ}\text{C}$ 。

1.5 肌内脂肪细胞甘油三酯含量的测定

按照试剂盒说明书(北京北化康泰临床试剂有限公司),检测肌内脂肪细胞内甘油三酯含量。并按

表1 PCR引物参数
Table 1 Parameters of primer pairs used for PCR

| 目的基因 Target gene | 引物序列 Primer sequences | 引物位置(bp) Primer location(bp) | 产物大小(bp) Production size(bp) | 基因登陆号 Genbank No. |
|---------------------|---|---------------------------------|---------------------------------|----------------------|
| 18S rRNA | F: 5'-GCG GCT TTG GTG ACT CTA-3' R: 5'-CTG CCT CCT TGG ATG TG-3' | 608 802 | 194 | NR_002170.3 |
| <i>FAS</i> | F: 5'-CTG TGT TCT GTC TGT-3' R: 5'-CCA GGT TCG TGT AAA-3' | 7 853 7 960 | 108 | NM_001099930.1 |
| <i>ACC</i> | F: 5'-GCA ATC ATC AGA CAT T-3' R: 5'-TCC AAC TCA TCC ATA G-3' | 4 810 4 942 | 101 | NM_001114269.1 |
| <i>DGAT-1</i> | F: 5'-AAG GAC GGA CAC GAC GAT G-3' R: 5'-GGA ACG CAG TCA CAG CAA AG-3' | 364 634 | 289 | NM_214051.1 |
| <i>H-FABP</i> | F: 5'-ATG ACC AAG CCT ACC ACA-3' R: 5'-AGT TTG CCT CCA TCC AGT-3' | 106 275 | 170 | AJ416019 |
| <i>A-FABP</i> | F: 5'-CAG GAA AGT CAA GAG CAC CA-3' R: 5'-TCG GGA CAA TAC ATC CAA CA-3' | 253 460 | 227 | AJ416020 |
| <i>SCD</i> | F: 5'-TCT GGG CGT TTG CCT ACT ATC T-3' R: 5'-TCT TTG ACG GCT GGG TGT TT-3' | 481 760 | 280 | AY487829 |

照标准曲线公式计算甘油三酯的含量。

1.6 统计分析

用Excel2010对数据进行统计分析, 对不同H-FABP基因型滇南小耳猪脂类合成代谢相关基因表达进行差异比较。用SPSS软件对基因表达水平与肌内脂肪细胞中甘油三酯含量进行双变量分析。

2 结果

2.1 H-FABP基因型分析

分析100头滇南小耳猪的PCR-RFLPs-H-FABP基因型, 结果显示HaeIII-RFLP、MspI-RFLP均无多态性, 分别表现为DD、AA基因型; Hinfl-RFLP位点多态性, 分别为HH、Hh、hh三种基因型(图1)。

2.2 肌内脂肪细胞RNA的提取

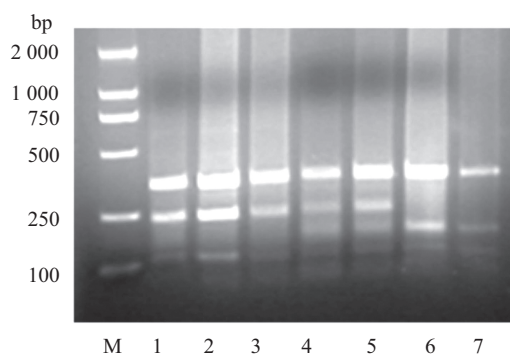
取3 μ L提取的总RNA, 观察RNA条带, 用1%琼脂糖凝胶电泳检测(图2)。三条条带清晰可见, 经检测 D_{260}/D_{280} 值为1.8~2.0, 总RNA浓度较高, 达到8.7~13.6 μ g/ μ L, 符合实验要求。

2.3 肌内脂肪细胞中甘油三酯含量

不同H-FABP基因型肌内脂肪细胞中甘油三酯的含量见表2。结果显示, HH基因型的肌内脂肪细胞中甘油三酯含量显著高于Hh、hh基因型($P<0.05$)。不同基因型对肌内脂肪细胞中甘油三酯含量的影响为: HH>Hh>hh。

2.4 不同H-FABP基因型脂类合成代谢相关基因mRNA的表达水平

结果表明不同H-FABP基因型脂类合成代谢相关基因(*H-FABP*、*A-FABP*、*SCD*、*FAS*、*ACC*、*DGAT-1*)



M: DL2000 DNA marker; 1-3: hh型; 4,5: Hh型; 6,7: HH型。
M: DL2000 DNA marker; 1-3: hh genotype; 4,5: Hh genotype; 6,7: HH genotype.

图1 滇南小耳猪Hinfl-RFLP位点图

Fig.1 The Hinfl I-RFLP location of Diannan small-ear pigs

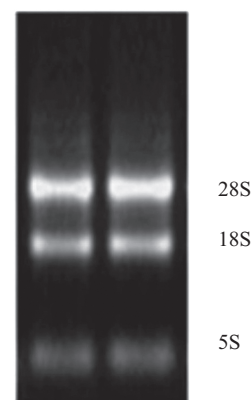


图2 肌内脂肪细胞RNA提取

Fig.2 The total RNA of intramuscular adipocytes

在Hinfl-RFLP位点的HH基因型的表达量显著高于Hh、hh基因型($P<0.05$); *A-FABP*、*FAS*、*ACC*基因在Hinfl-RFLP位点的Hh基因型的表达量与hh基因型

表2 肌内脂肪细胞中甘油三酯含量

Table 2 The content of TG in intramuscular adipocyte

| 基因型 | 样本数 | TG(mmol/L) |
|----------|---------------|--------------------------|
| Genotype | Sample number | TG(mmol/L) |
| HH | 30 | 1.024±0.027 ^a |
| Hh | 30 | 0.797±0.045 ^b |
| hh | 30 | 0.462±0.042 ^c |

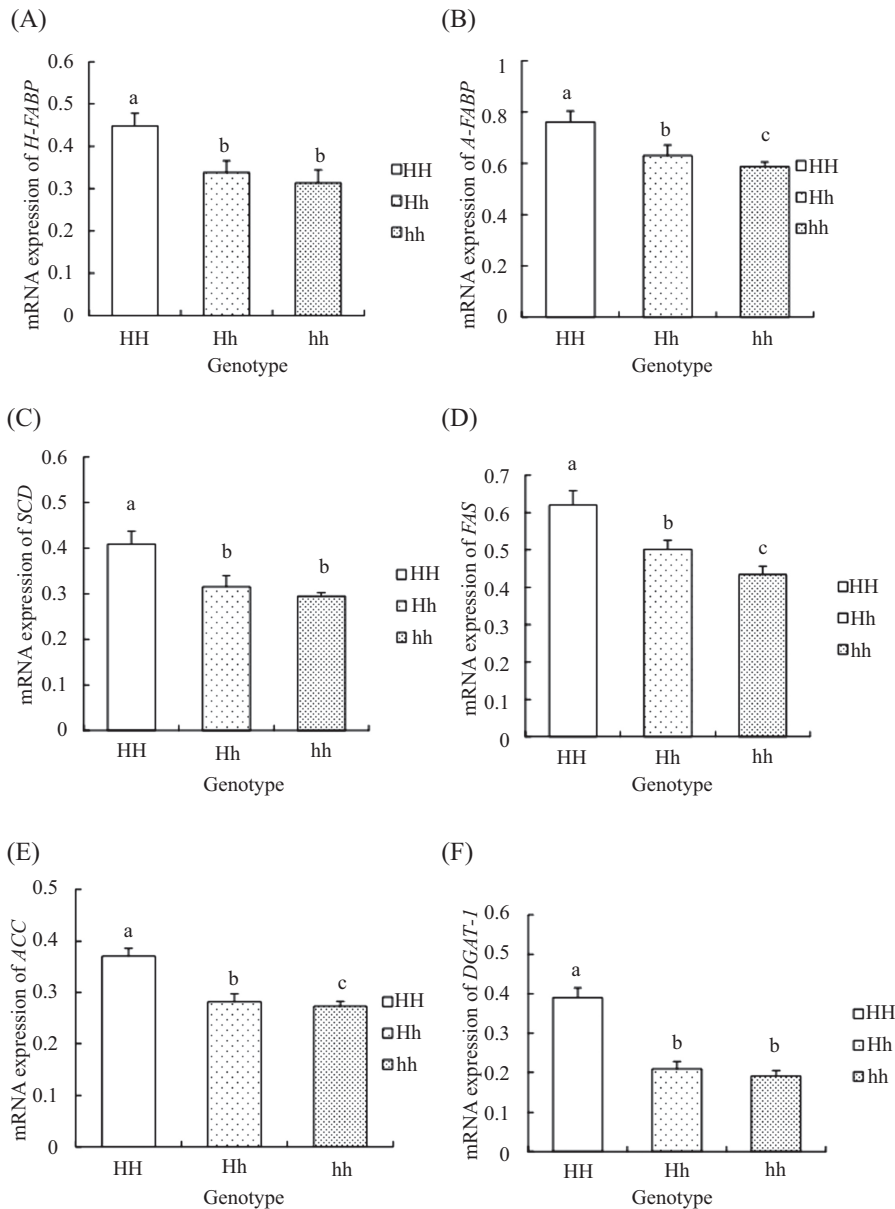
不同字母间为差异显著($P<0.05$)

Different letters in figure mean significant difference between the treatments($P<0.05$).

差异显著($P<0.05$); *H-FABP*、*SCD*、*DGAT-1*基因在 *HinfI*-RFLP位点的Hh基因型的表达量与hh基因型差异不显著($P>0.05$, 图3)。

2.5 脂类合成代谢相关基因与肌内脂肪细胞甘油三酯含量的关联性分析

双变量分析表明, 滇南小耳猪*H-FABP*基因 mRNA表达量与肌内脂肪细胞中甘油三酯含量呈强度正相关($r=0.801$); 不同H-FABP基因型脂类合



A: *H-FABP* mRNA相对表达量; B: *A-FABP* mRNA相对表达量; C: *SCD* mRNA相对表达量; D: *FAS* mRNA相对表达量; E: *ACC* mRNA相对表达量; F: *DGAT-1* mRNA相对表达量。平均数有相同字母为差异不显著, 不同字母间为差异显著($P<0.05$)。

A: mRNA expression of *H-FABP*; B: mRNA expression of *A-FABP*; C: mRNA expression of *SCD*; D: mRNA expression of *FAS*; E: mRNA expression of *ACC*; F: mRNA expression of *DGAT-1*. Different letters in figure mean significant difference between the treatments($P<0.05$), the same letter in figure means not significant difference between treatments.

图3 不同H-FABP基因型脂类合成代谢相关基因mRNA相对表达量

Fig.3 The mRNA expression of lipid synthesis metabolism related genes with different H-FABP genotypes

表3 不同H-FABP基因型脂类合成代谢相关基因与肌内脂肪细胞甘油三酯(TG)的关联性分析
Table 3 Correlation analysis the mRNA expression levels of lipogenic genes in intramuscular adipocytes with the content of TG in intramuscular adipocytes

| | <i>H-FABP</i> | <i>A-FABP</i> | <i>SCD</i> | <i>ACC</i> | <i>FAS</i> | <i>DGAT-1</i> | <i>TG</i> |
|---------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|-----------|
| <i>H-FABP</i> | 1 | | | | | | |
| <i>A-FABP</i> | 0.738** 0.000 | 1 | | | | | |
| <i>SCD</i> | 0.526** 0.008 | 0.682** 0.000 | 1 | | | | |
| <i>ACC</i> | 0.749** 0.000 | 0.840** 0.000 | 0.695** 0.000 | 1 | | | |
| <i>FAS</i> | 0.828** 0.000 | 0.571** 0.004 | 0.583** 0.003 | 0.648** 0.001 | 1 | | |
| <i>DGAT-1</i> | 0.632** 0.001 | 0.803** 0.000 | 0.865** 0.000 | 0.850** 0.000 | 0.606** 0.002 | 1 | |
| <i>TG</i> | 0.801** 0.000 | 0.717** 0.000 | 0.701** 0.000 | 0.689** 0.000 | 0.754** 0.000 | 0.740** 0.000 | 1 |

$r < 0$ 为负相关; $r > 0$ 为正相关; $|r| < 0.3$ 为弱相关; $0.3 < |r| < 0.7$ 为中度相关; $0.7 < |r| < 1.0$ 为强度相关; **为在0.01水平(双侧)上显著相关。

$r < 0$ represents negative correlation; $r > 0$ 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 a strong correlation; **represent significant positive correlation.

成代谢相关基因*ACC*的mRNA表达量与肌内脂肪细胞中甘油三酯含量呈中度正相关($r=0.689$); 不同H-FABP基因型脂类合成代谢相关基因*A-FABP*、*SCD*、*FAS*、*DGAT-1*的mRNA表达量与肌内脂肪细胞中甘油三酯含量呈强度正相关($r=0.71709$ 、 $r=0.701$ 、 $r=0.754$ 、 $r=0.740$); 且不同H-FABP基因型脂类合成代谢相关基因*H-FABP*、*A-FABP*、*ACC*、*SCD*、*FAS*、*DGAT-1*的mRNA表达量与肌内脂肪细胞中甘油三酯含量呈显著相关($P < 0.01$, 表3)。

3 讨论

滇南小耳猪是云南优良地方猪种, 具有肌内脂肪含量高、肉质鲜美的性状, 但关于其肌内脂肪沉积的机理研究较少。*H-FABP*基因是肌内脂肪沉积的候选基因, 在脂肪沉积过程中具有重要作用^[10]。国内外猪种的大量研究表明, *H-FABP*基因的多态性及表达水平影响着IMF的含量。三江白猪*H-FABP*基因在HaeIII-RFLP位点具有多态性, 在HinfI、MspI-RFLP位点不存在多态性^[11]。西部地区主要猪种洛克猪、长白猪、大白猪、内江猪、荣昌猪、汉江黑猪、汉中白猪、八眉猪和野猪在*H-FABP*基因的HinfI-RFLP位点均具有多态性, 对肌内脂肪含量的影响为HH>Hh>hh, 且差异显著^[12]。PIC商品群在*H-FABP*基因的HaeIII位点具有多态性, MspI和HinfI位点没有多态性。H-FABP基因型对肌内脂肪和肌

肉蛋白含量存在极显著的影响^[13]。巴克夏猪*H-FABP*基因在HinfI-RFLP位点具有多态性, 且HH基因型的IMF含量显著高于其他基因型^[14]。莱芜猪和杜洛克猪肌肉*H-FABP*基因mRNA的表达量与肌内脂肪含量相关显著^[15]。而本研究结果显示, 滇南小耳猪在HinfI-RFLP位点存在多态性, 在HaeIII-RFLP位点及MspI-RFLP位点无多态性。总之, 这些研究证明了不同H-FABP基因型影响着IMF的含量, 可作为肌内脂肪沉积的候选基因^[16-17]。

为了深入探讨不同H-FABP基因型猪肌内脂肪沉积存在差异的分子机理, 本实验室检测了云南地方猪种昭通乌金猪H-FABP基因型, 并且研究了不同H-FABP基因型对乌金猪脂类合成代谢相关基因表达水平的影响, 结果研究表明, 昭通乌金猪在HinfI-RFLP和HaeIII-RFLP位点具有多态性。HH基因型猪肌肉组织中脂类合成代谢相关基因mRNA表达水平显著高于其它基因型^[9]。在此研究基础上, 本研究继续围绕脂类合成代谢, 以滇南小耳猪为研究对象, 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制。

在脂类代谢过程中, 脂肪合成代谢是脂肪沉积的关键, 决定了动物脂肪沉积及肌内脂肪含量。脂肪在高等动物体内是通过一系列酶促反应合成的。乙酰辅酶A羧化酶(acetyl CoA carboxylase, ACC)是脂肪酸从头合成过程中的限速酶, 催化丙二酸单酰

辅酶A的生成,是脂肪酸合成的第一个产物^[18-19]。ACC是动物组织中调控脂肪酸合成的一个决定性酶^[20]。ACC在脂肪合成开始过程中起着重要作用。本研究表明,不同H-FABP基因型脂类合成代谢相关基因ACC在HinfI-RFLP位点的HH基因型的mRNA表达量显著高于其它基因型,HH基因型的肌肉脂肪细胞中甘油三酯含量也显著高于其它基因型。相关性研究表明,不同H-FABP基因型脂类合成代谢相关基因ACC的mRNA表达量与肌肉脂肪细胞中甘油三酯含量呈显著正相关。

脂肪酸合成酶(fatty acid synthase, FAS)同样是脂肪合成开始的一个限速酶,脂肪酸合成酶是一个多酶复合体系,由7种酶和一个酰基载体蛋白(acyl carrier protein, ACP)组成,它利用丙二酸单酰辅酶A合成长链脂肪酸棕榈酸。FAS表达水平的升高能够显著增加甘油三酯在体内的沉积而导致肥胖^[21-22]。因此,FAS在脂肪合成开始过程中起着重要作用。本文对滇南小耳猪的研究发现,不同H-FABP基因型脂类合成代谢相关基因FAS在HinfI-RFLP位点的HH基因型的mRNA表达量显著高于其它基因型,HH基因型的肌肉脂肪细胞中甘油三酯含量也显著高于其它基因型。不同H-FABP基因型脂类合成代谢相关基因FAS的mRNA表达量与肌肉脂肪细胞中甘油三酯含量呈显著正相关。

二酰基甘油酰基转移酶(diacylglycerol acyltransferase, DGAT)是脂肪细胞中控制甘油三酯合成的核心酶,催化甘油三酯合成最后一步反应^[23]。在动物脂肪组织中,DGAT-1影响着甘油三酯的储存,并在骨骼肌中表达^[24]。不同H-FABP基因型脂类合成代谢相关基因DGAT-1在HinfI-RFLP位点的HH基因型的mRNA表达量显著高于其它基因型,HH基因型的肌肉脂肪细胞中甘油三酯含量也显著高于其它基因型。不同H-FABP基因型脂类合成代谢相关基因DGAT-1的mRNA表达量与肌肉脂肪细胞中甘油三酯含量呈显著正相关。

硬脂酰CoA去饱和酶(stearoyl-CoA desaturase, SCD)是不饱和脂肪酸生物合成的限速酶,在脂肪酸生物合成中起着中心调节作用。SCD是一个广谱表达基因,影响肥胖度^[25-26]。在调控脂肪酸组成过程中,SCD主要将饱和脂肪酸变为单不饱和脂肪酸,它是脂肪酸组成的候选基因^[27-28]。也有研究表明,SCD可作为IMF沉积的潜在的有效生物标记^[29]。不同

H-FABP基因型脂类合成代谢相关基因SCD在HinfI-RFLP位点的HH基因型的mRNA表达量显著高于其它基因型,HH基因型的肌肉脂肪细胞中甘油三酯含量也显著高于其它基因型。不同H-FABP基因型脂类合成代谢相关基因SCD的mRNA表达量与肌肉脂肪细胞中甘油三酯含量呈显著正相关。

AFABP和HFABP是FABP家族中重要的两种类型,这类基因主要参与细胞内脂肪酸的运输。AFABP和HFABP的遗传变异与肌肉脂肪含量有关^[30-31]。A-FABP基因的多态性显著影响着肌肉脂肪含量。A-FABP基因可作为IMF含量的候选基因,也可作为与肉质有关的数量性状联合基因^[32]。然而,脂类合成代谢相关基因的高表达影响着IMF含量^[33]。本文对滇南小耳猪的研究发现,不同H-FABP基因型脂类合成代谢相关基因H-FABP、A-FABP在HinfI-RFLP位点的HH基因型的mRNA表达量显著高于其它基因型,HH基因型的肌肉脂肪细胞中甘油三酯含量也显著高于其它基因型。不同H-FABP基因型脂类合成代谢相关基因H-FABP、A-FABP的mRNA表达量与肌肉脂肪细胞中甘油三酯含量呈显著正相关($r=0.801$ 、 $r=0.717$),且高于莱芜猪H-FABP基因mRNA表达水平与肌肉脂肪含量的相关系数(0.547)^[34]。因此,不同H-FABP基因型滇南小耳猪HH基因型的肌肉脂肪细胞中甘油三酯含量高可能与肌肉脂肪细胞中脂类合成代谢基因上调有关。

总之,不同H-FABP基因型滇南小耳猪,脂类合成代谢相关基因的mRNA表达水平与肌肉脂肪细胞中甘油三酯含量呈显著正相关,HH基因型的肌肉脂肪细胞中甘油三酯含量高。脂肪合成代谢相关基因的调控作用与肌肉脂肪含量、脂肪沉积息息相关。

参考文献 (References)

- 1 Wood JD, Enser M, Fisher AV, Nute GR, Richardson RI, Sheard PR. Manipulating meat quality and composition. Proc Nutr Soc 1999; 58(2): 363-70.
- 2 Chmurzyńska A. The multigene family of fatty acid-binding proteins (FABPs): Function, structure and polymorphism. J Appl Genet 2006; 47(1): 39-48.
- 3 Lee SH, Choi YM, Choe JH, Kim JM, Hong KC, Park HC, 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. Meat Sci 2010; 86(3): 794-800.
- 4 Gao SZ, Zhao SM. Physiology, affecting factors and strategies for control of pig meat intramuscular fat. Recent Pat Food Nutr Agric 2009; 1(1): 59-74.

- 5 Li WZ, Zhao SM, Huang Y, Yang MH, Pan HB, Zhang X, *et al.* Expression of lipogenic genes during porcine intramuscular preadipocyte differentiation. *Res Vet Sci* 2012; 93(3): 1190-4.
- 6 Gerbens F, Rettenberger G, Lenstra JA, Veerkamp JH, te Pas MF. Characterization, chromosomal localization and genetic variation of the porcine heart fatty acid binding protein gene. *Mamm Genome* 1997; 8(5): 328-32.
- 7 Gerbens F, Jansen A, van Erp AJ, Harders F, Meuwissen TH, Rettenberger G, *et al.* The adipocyte fatty acid binding protein locus: Characterization and association with intramuscular fat content in pigs. *Mamm Genome* 1998; 9(12): 1022-6.
- 8 Gerbens F, Verburg FJ, van Moerkerk HT, Engel B, Buist W, Veerkamp JH, *et al.* Associations of heart and adipocyte fatty acid-binding protein gene expression within intramuscular fat content in pigs. *J Anita Sci* 2001; 79(2): 347-54.
- 9 Zhao SM, Ren LJ, Guo L, Cheng ML, Zhang X, Ge CR, *et al.* Muscle lipid metabolism gene expression in pigs with different H-FABP genotypes. *Livestock Sci* 2010; 128: 101-7.
- 10 Serão NV, Veroneze R, Ribeiro AM, Verardo LL, Braccini Neto J, Gasparino E, *et al.* Candidate gene expression and intramuscular fat content in pigs. *J Anim Breed Genet* 2011; 128(1): 28-34.
- 11 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. *中国畜牧杂志*(Geng Zhongcheng, Chen Jianhua. Relationship between polymorphism of Sanjiang white pigs H-FABP gene and IMF content. *Chinese Journal of Animal Science*) 2007; 43(15): 7-10.
- 12 庞卫军, 白亮, 杨公社. 西部地区主要猪种H-FABP基因多态性, IMF含量及不同基因型脂肪细胞脂滴量的关系. *遗传学报*(Pang Weijun, Bai Liang, Yang Gongshe. Relationship among H-FABP gene polymorphism, intramuscular fat content, and adipocyte lipid droplet content in main pig breeds with different genotypes in Western China. *Journal of Genetics and Genomics*) 2006; 33(6): 515-24.
- 13 李长龙, 萨晓婴, 孟和, 潘玉春. H-FABP基因的多态性和营养因素对猪肉质的影响. *遗传*(Li Changlong, Sa Xiaoying, Meng He, Pan Yuchun. Effects of H-FABP gene polymorphisms and nutritional factors on pork quality. *Hereditas*) 2009; 31(7): 713-8.
- 14 Lee SH, Choi YM, Choe JH, Kim JM, Hong KC, Park HC, *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. *Meat Sci* 2010; 86(3): 794-800.
- 15 呼红梅, 王继英, 郭建凤, 张印, 沈彦锋, 武英. 莱芜猪和杜洛克猪肌肉H-FABP基因表达量与肌肉脂肪和脂肪酸含量关联分析. *华北农学报*(Hu Hongmei, Wang Jiying, Guo Jianfeng, Zhang Yin, Shen Yanfeng, Wu Ying. Correlation of H-FABP gene expression with IMF and fatty acid content in Laiwu pigs and Duroc. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*) 2010; 25(4): 64-8.
- 16 Cho KH, Kim MJ, Jeon GJ, Chung HY. Association of genetic variants for FABP3 gene with back fat thickness and intramuscular fat content in pig. *Mol Biol Rep* 2011; 38(3): 2161-6.
- 17 Li CL, Sa XY, Meng H, Pan YC. Effects of H-FABP gene polymorphisms and nutritional factors on pork quality. *Yi Chuan* 2009; 31(7): 713-8.
- 18 Liu CY, Grant AL, Kim KH, Mills SE. Porcine somatotropin decreases acetyl-CoA carboxylase gene expression in porcine adipose tissue. *Domest Anim Endocrinol* 1994; 11(1): 125-32.
- 19 Oh W, Abu-Elheiga L, Kordari P, Gu Z, Shaikenov T, Chirala SS, *et al.* Glucose and fat metabolism in adipose tissue of acetyl-CoA carboxylase 2 knockout mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102(5): 1384-9.
- 20 Matsumoto H, Sasaki K, Bessho T, Kobayashi E, Abe T, Sasazaki S, *et al.* The SNPs in the ACACA gene are effective on fatty acid composition in holstein milk. *Mol Biol Rep* 2012; 39(9): 8637-44.
- 21 Smith S, Witkowski A, Joshi AK. Structural and functional organization of the animal fatty acid synthase. *Prog Lipid Res* 2003; 42(4): 289-317.
- 22 Chirala SS, Wakil SJ. Structure and function of animal fatty acid synthase. *Lipids* 2004; 39(11): 1045-53.
- 23 Farese RV, Cases S, Smith SJ. Triglyceride synthesis: Insights from the cloning of diacylglycerol acyltransferase. *Curr Opin Lipidol* 2000; 11(3): 229-34.
- 24 Li T, Xu D, Zuo B, Lei M, Xiong Y, Chen H, *et al.* Ectopic over-expression of porcine DGAT1 increases intramuscular fat content in mouse skeletal muscle. *Transgenic Res* 2013; 22(1): 187-94.
- 25 Ren J, Knorr C, Huang L, Brenig B. Isolation and molecular characterization of the porcine stearoyl-CoA desaturase gene. *Gene* 2004; 340(1): 19-30.
- 26 Warensjö E, Ingelsson E, Lundmark P, Lannfelt L, Syvänen AC, Vessby B, *et al.* Polymorphisms in the SCD1 gene: Associations with body fat distribution and insulin sensitivity. *Obesity (Silver Spring)* 2007; 15(7): 1732-40.
- 27 Zulkifli RM, Parr T, Salter AM, Brameld JM. Regulation of ovine and porcine stearoyl coenzyme A desaturase gene promoters by fatty acids and sterols. *J Anim Sci* 2010; 88(8): 2565-75.
- 28 Uemoto Y, Nakano H, Kikuchi T, Sato S, Ishida M, Shibata T, *et al.* Fine mapping of porcine SSC14 QTL and SCD gene effects on fatty acid composition and melting point of fat in a Duroc purebred population. *Anim Genet* 2012; 43(2): 225-8.
- 29 Cánovas A, Estany J, Tor M, Pena RN, Doran O. Acetyl-CoA carboxylase and stearoyl-CoA desaturase protein expression in subcutaneous adipose tissue is reduced in pigs selected for decreased backfat thickness at constant intramuscular fat content. *J Anim Sci* 2009; 87(12): 3905-14.
- 30 Nechtelberger D, Pires V, Söolknet J, Stur, Brem G, Mueller M, Mueller S. Intramuscular fat content and genetic variants at fatty acid-binding protein loci in Austrian pigs. *J Anim Sci* 2001; 79(11): 2798-804.
- 31 Samulin J, Berget I, Lien S, Sundvold H. Differential gene expression of fatty acid binding proteins during porcine adipogenesis. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol* 2008; 151(2): 147-52.
- 32 Gao Y, Zhang YH, Zhang S, Li F, Wang S, Dai L, *et al.* Association of A-FABP gene polymorphism in intron 1 with meat quality traits in Junmu No.1 white swine. *Gene* 2011; 487(2): 170-3.
- 33 Zhao SM, Ren LJ, Chen L, Zhang X, Cheng ML, Li WZ, *et al.* Differential expression of lipid metabolism related genes in porcine muscle tissue leading to different intramuscular fat deposition. *Lipids* 2009; 44(11): 1029-37.
- 34 王继英, 呼红梅, 张大龙, 郭建凤, 张印, 王怀中, 等. 莱芜猪和杜洛克猪心脏脂肪酸结合蛋白基因(H-FABP)表达差异和肉质性状的关系. *农业生物技术学报*(Wang Jiying, Hu Hongmei, Zhang Dalong, Guo Jianfeng, Zang Yin, Wang Huaizhong, *et al.* Difference of heart fatty-acid-binding protein gene (H-FABP) expression in Laiwu and Duroc pigs and their relationships with meat quality. *Journal of Agricultural Biotechnology*) 2009; 3: 543-4.