

饥饿及复投喂对大黄鱼肠型脂肪酸结合蛋白b基因表达的影响

黄红丽¹ 薛良义^{1,2*} 王 俊³

(¹宁波大学海洋学院, 宁波 315211; ²浙江海洋高效健康养殖协同创新中心, 宁波 315211;

³宁波大学科技学院, 宁波 315212)

摘要 为从分子水平研究肠型脂肪酸结合蛋白基因(intestines fatty acid-binding protein, *I-FABP*)在鱼类脂代谢中的作用, 该研究克隆并获得了1 362 bp大黄鱼*I-FABPb*基因序列, 采用实时荧光定量PCR技术检测了*I-FABPb*基因在肌肉、肝、肠、胃、性腺、鳃、脑和心脏等8个不同组织中的表达情况, 研究了饥饿和复投喂对大黄鱼*I-FABPb*基因在肠、肌肉和肝中表达的影响。结果显示, *I-FABPb*基因在8个被检测组织中均有表达, 但在肠中表达量最高。饥饿对大黄鱼肠、肌肉和肝中*I-FABPb*基因表达影响显著, 均呈现了先上升后下降的趋势, 但在肠中变化最显著; 长期饥饿后复投喂, *I-FABPb*基因在肠、肌肉和肝中的表达量均显著升高($P<0.05$), 且显著高于饥饿0 d的水平($P<0.05$)。结果表明, 饥饿及复投喂明显影响大黄鱼的脂肪代谢, *I-FABPb*在肠道脂肪代谢中起重要作用。

关键词 大黄鱼; 肠型脂肪酸结合蛋白基因; 饥饿; 复投喂

Effects of Fasting and Re-feeding on the Expression of *I-FABPb* in *Larimichthys crocea*

Huang Hongli¹, Xue Liangyi^{1,2*}, Wang Jun³

(¹College of Marine Sciences, Ningbo University, Ningbo 315211, China; ²Collaborative Innovation Center for Zhejiang Marine High-Efficiency and Healthy Aquaculture, Ningbo 315211, China; ³College of Science and Technology, Ningbo University, Ningbo 315212, China)

Abstract To study the role and its molecular mechanism of intestines fatty acid-binding protein gene (*I-FABP*) in teleost lipid metabolism, 1 362 bp *I-FABP* gene was cloned from large yellow croaker intestines tissue. *I-FABPb* expression was detected in muscle, liver, intestine, stomach, gonad, gill, brain and heart tissues by Real-time fluorescent quantitative PCR (qRT-PCR). The effects of fasting and re-feeding on the expression of *I-FABPb* in large yellow croaker intestines, muscle and liver tissues were also analyzed. Results showed that the large yellow croaker *I-FABPb* was widely expressed in all tested eight tissues, and most abundant in intestine tissue. Fasting had a significant influence on the expression of *I-FABPb* in large yellow croaker intestine, muscle and liver tissues, of which the most obvious influence was in intestine tissue. The expression of *I-FABPb* in all three tissues showed a same tendency, increase at first and then decrease ($P<0.05$) during fasting. *I-FABPb* expression level significantly increased after re-feeding treatment ($P<0.05$) in the three tissues, and also was significantly higher than the level of

收稿日期: 2015-12-25 接受日期: 2016-02-24

国家自然科学基金(批准号: 31172398)、浙江省自然科学基金(批准号: LY15C190005)和宁波市科技局项目(批准号: 2015C110005)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0574-87600165, E-mail: xueliangyi@nbu.edu.cn

Received: December 25, 2015 Accepted: February 24, 2016

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.31172398), Zhejiang Provincial Natural Science Foundation (Grant No.LY15C190005) and Science and Technology Department of Ningbo Municipality (Grant No.2015C110005)

*Corresponding author. Tel: +86-574-87600165, E-mail: xueliangyi@nbu.edu.cn

网络出版时间: 2016-04-08 16:44:22

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20160408.1644.002.html>

fasting 0 day ($P < 0.05$). It implied that fasting and re-feeding significantly affected fat metabolism in large yellow croaker, and I-FABPb played an important role in intestinal fat metabolism.

Keywords *Larimichthys crocea*; intestine fatty acid binding protein; fasting; re-feeding

脂肪酸结合蛋白(fatty acid-binding proteins, FABPs)属于脂质结合蛋白超家族成员,是一类低分子量的胞质蛋白质,广泛存在于动物细胞内,主要参与脂肪酸的运输,可将脂肪酸从细胞膜运送到甘油三酯和磷脂合成的位点,因此,在脂代谢过程中起着重要的作用^[1-3]。FABPs分子量为14~16 kDa,包含126~134个氨基酸,目前已发现18种类型的FABPs,并以分离或鉴定的第1种组织命名,分别为心型(heart type, H)、脂肪型(adipocyte type, A)、肝脏型(liver type, L)、肠型(intestines type, I)、脑型(brain type, B)、回肠型(ileum type, Il)、上皮细胞型(epithelial type, E)和髓磷脂型(myelin type, My)等。研究显示,某些类型的FABPs只在特定的组织中表达,如:哺乳动物的脂肪型脂肪酸结合蛋白基因(*A-FABP*)只在脂肪组织中表达^[4],但是大多数FABPs基因的表达不局限于其命名的某种组织或器官,例如瓦氏黄颡鱼(*Pelteobagrus vachelli*)肝型脂肪酸结合蛋白基因(*L-FABP*)和心型脂肪酸结合蛋白基因(*H-FABP*)在心脏、肝脏、肠道和脂肪等组织中均有表达^[5]。

肠型脂肪酸结合蛋白(intestines fatty acid binding protein, I-FABP)是首先从肠黏膜细胞液中分离出来的脂肪酸结合蛋白,拥有一个单配体结合位点^[6],因此能够特异结合未酯化的游离长链脂肪酸(long chain fatty acids, LCFAS)并参与其运输^[7]。Agellon等^[8-9]指出,敲除*I-FABP*基因会导致雄性小鼠高脂肪食源性脂肪肝,因此, I-FABP和脂肪的吸收有密切关系。目前已在鲤鱼(*Cyprinus carpio*)^[10]、建鲤(*C. carpio* var. *jian*)^[11]、大西洋鲑(*Salmo salar*)^[12-13]、斑马鱼(*Danio rerio*)^[14]等鱼类中克隆得到*I-FABP*基因序列。从已克隆到的鱼类*I-FABP*序列发现,某些鱼类存在两种类型*I-FABP*基因,例如鲤鱼、建鲤等鱼类中出现了*I-FABPa*和*I-FABPb*两型^[10-11]。Jiang等^[15]发现, *I-FABP*基因仅在猪的肠和胃组织中表达。而Sharma等^[14]和Venold等^[12]的研究结果显示,在鱼类的肠、脑、胃、肝、肌肉等组织中均检测到*I-FABP*基因的表达,但是*I-FABP*普遍在肠中高表达。大量研究显示, *I-FABP*基因的表达受多种因素的调控,例如非洲爪蟾(*Xenopus laevis*) *I-FABP*的表达受甲状腺

激素的调节^[16]、大西洋鲑表达受饲料中脂肪含量的调节^[12]、小鼠*I-FABP*表达受年龄、饲料中脂肪含量、激素等的调节^[17-18]。

大黄鱼(*Larimichthys crocea*)是我国主要的海水养殖鱼类之一,具有较高的经济价值,目前在我国已被普遍养殖。在人工养殖条件下,通过控制投喂量以提高鱼类肉质是普遍存在的现象^[19-20]。在饥饿条件下,鱼类代谢机能会发生相应的变化来适应外界条件,目前已有关于饥饿影响大黄鱼脂肪含量及肉质的报道^[19],而关于饥饿对大黄鱼脂代谢基因*I-FABPb*表达影响还未见报道。本研究克隆了大黄鱼*I-FABPb*基因,并对其序列进行比较和分析,在此基础上应用实时荧光定量PCR技术检测了*I-FABPb*基因在各组织中的表达情况,并进一步探讨了饥饿及复投喂对大黄鱼*I-FABPb*基因表达的影响,以期为进一步探讨I-FABPb的功能、作用机理及调控鱼类脂肪代谢的研究提供参考性资料。

1 材料与amp;方法

1.1 材料

6月龄大黄鱼(111.51±6.24 g)购自宁波海湾水产种苗繁育中心。实验开始前对大黄鱼进行为期1周的驯养,期间饱食投喂冰鲜鱼;实验开始时取100尾健康的大黄鱼平均分配于两个3 m×3 m×3 m的网箱中,每箱50尾,一个网箱为实验组,另一个网箱为对照组。实验期间,实验组持续饥饿42 d后再饱食投喂两周,对照组饱食投喂冰鲜鱼,每天投喂2次(5:00 am; 17:00 pm)。

1.2 取样

分别在饥饿0 d(F0)、7 d(F7)、14 d(F14)、21 d(F21)、28 d(F28)、35 d(F35)、42 d(F42)及复投喂7 d(RF7)、14 d(RF14)采集样本,平行采集对照组样本。每个平行采集3尾,迅速取肌肉、肝、肠、胃、心、鳃、性腺和脑组织置于1.5 mL离心管(RNase free)中,液氮速冻后于-80 °C冰箱保存备用。

1.3 总DNA、RNA提取和cDNA第一条链的合成

按SQ Tissue DNA Kit(Omega公司,美国)说明书要求提取大黄鱼肠组织基因组DNA,用Trizol法

提取肌肉、肝、肠、胃、心、鳃、性腺和脑组织的总RNA, 紫外分光光度计检测DNA和RNA的浓度, 1%琼脂糖凝胶[生工生物工程(上海)股份有限公司]电泳检测DNA和RNA完整性。以提取的总RNA为模板, 按照PrimeScript™ RT Reagent Kit with gDNA Eraser(Perfect Real-time)试剂盒[宝生物工程(大连)有限公司]说明书要求反转录成cDNA。

1.4 大黄鱼*I-FABPb*基因的克隆

在本实验室转录组测序获得大黄鱼*I-FABP*基因cDNA序列的基础上, 采用PCR方法进行*I-FABPb*基因cDNA序列的验证及*I-FABPb*基因DNA序列的克隆(图1)。根据已经获得的cDNA序列设计引物I-FABPb-F: 5'-CGG CAG ACT TTG AGT AAG ACA C-3'和I-FABPb-R: 5'-CGG TTG CAG TGG TAT AAT TCA-3', 引物由上海华大基因科技有限公司合成。以肠组织cDNA为模板进行cDNA序列验证, 以肠组织DNA为模板进行DNA序列扩增。cDNA验证和DNA扩增的PCR反应体系均为: 1 μL正向引物/反向引物(10 μmol/L), 1 μL基因组cDNA/DNA, 12.5 μL 2×Taq MasterMix(Cwbio公司, 北京), 9.5 μL去RNA酶水, 总反应体积为25 μL。PCR程序: 94 °C预变性2 min; 94 °C变性30 s, 退火温度59 °C 30 s, 72 °C延伸1.5 min, 33个循环; 72 °C终延伸10 min。PCR产物经1%琼脂糖凝胶电泳后, 用胶回收试剂盒(生工)纯化。将回收的产物与pMD19-T载体连接, 并将连接产物转化至感受态细胞DH5α, 筛选阳性单克隆进行菌落PCR检测, 将含有目的条带的菌液送至上海华大基因科技有限公司测序。

1.5 *I-FABPb*基因表达分析

根据获得的大黄鱼*I-FABPb*基因序列设计跨内含子的引物, I-FABPb1-F: 5'-ACA GAA CTA TCG GGC TCA-3', I-FABPb1-R: 5'-ATC CTC TTT GCG

TCC ACA-3', 用于基因表达的检测。内参基因*18S*引物18S-F: 5'-GTT CTT AGT TGG TGG AGC G-3', 18S-R: 5'-GAC ATC TAA GGG CAT CAC AG-3'。利用实时荧光定量PCR技术检测基因在各组织中表达情况, qRT-PCR体系为: cDNA模板1 μL、LightCycler® 480 SYBR Green I Master(Roche公司, 美国)9 μL、上下游引物各0.6 μL(10 μmol/L)、DEPC水(北京索莱宝科技有限公司)8.8 μL, 反应总体积20 μL。反应条件为: 94 °C预变性10 min; 95 °C变性15 s, 60 °C退火1 min, 40个循环; 熔解曲线(55~95) °C, 反应在Eppendorf Mastercycler® Eprealplex实时荧光定量PCR仪中进行。此外, 还检测了目的基因和内参的扩增效率, 内参基因的扩增效率为100.5%, *I-FABPb*的扩增效率为100.2%, 基因扩增效率都接近100%。

1.6 数据统计及分析

大黄鱼*I-FABPb* mRNA的相对表达水平采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算。所有样品重复3次, 不同组织目的基因相对表达量用平均值±标准差表示。采用SPSS 18.0统计分析软件对实验数据进行单因素方差分析(One-Way ANOVA), Duncan法多重比较分析, $P < 0.05$ 为差异具有显著性。

2 结果

2.1 大黄鱼*I-FABPb*基因克隆及序列分析

克隆到的大黄鱼*I-FABPb*基因DNA序列长度为1 362 bp, 与cDNA序列比对后, 确定4个外显子和3个内含子, 外显子的长度分别为67 bp、173 bp、108 bp和54 bp, 共402 bp, 编码133个氨基酸(GenBank登录号为: KT928646)。通过Blast比对显示, 大黄鱼*I-FABPb*核苷酸序列与雀鲷(*Stegastes partitus*)、尖吻鲈(*Lates calcarifus*)、革首南极鱼(*Notothenia coriiceps*)等鲈形目物种序列一致性达84%以上, 推断的氨基酸序

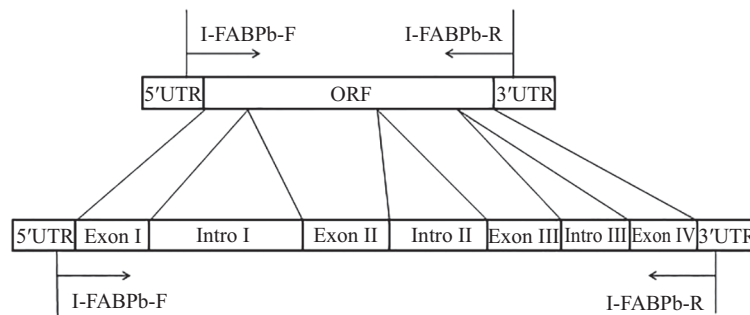


图1 大黄鱼*I-FABPb*基因克隆及引物位置示意图

Fig.1 The diagram of cloning and the position of the primer used for *L. crocea I-FABPb* gene

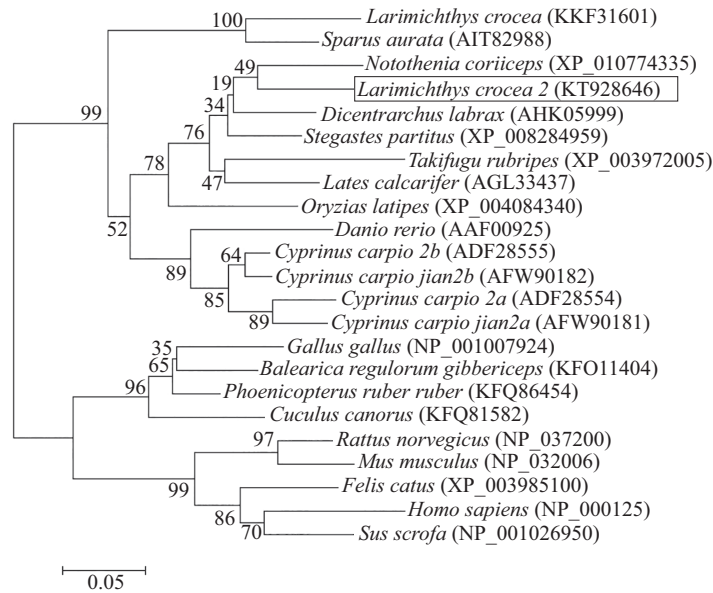


图2 大黄鱼与其他物种I-FABP氨基酸序列进化树

Fig.2 Phylogenetic tree of I-FABP amino acid sequences from *L. crocea* and other species

表1 FABPs基因结构比较

Table 1 Comparison of the structure of FABPs genes

| 基因 | 外显子I | 内含子I | 外显子II | 内含子II | 外显子III | 内含子III | 外显子IV |
|--|--------|---------|---------|----------|----------|-----------|---------|
| Gene | Exon I | Intro I | Exon II | Intro II | Exon III | Intro III | Exon IV |
| <i>Rattus norvegicus</i> L-FABP ^[21] | 115 | 1 454 | 173 | 1 224 | 93 | 610 | 121 |
| <i>R. norvegicus</i> H-FABP ^[22] | 72 | 3 390 | 173 | 1 396 | 99 | 1 060 | 58 |
| <i>C. carpio</i> var. jian I-FABPa ^[11] | 67 | 121 | 173 | 593 | 108 | 85 | 51 |
| <i>C. carpio</i> var. jian I-FABPb ^[11] | 67 | 144 | 173 | 785 | 108 | 83 | 51 |
| <i>L. crocea</i> I-FABPb | 67 | 405 | 173 | 281 | 108 | 151 | 54 |

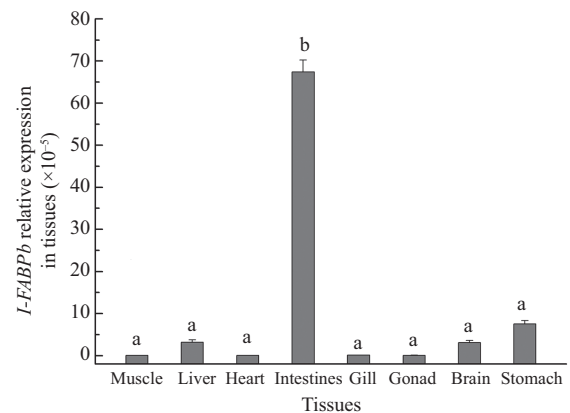
列的一致性在87%以上。将大黄鱼I-FABPb氨基酸序列与其他物种的I-FABP氨基酸序列进行多重比对,用MEGA 4.0软件中的NJ法构建系统进化树(图2)。结果显示,大黄鱼与其他鲈形目鱼类有较高的同源性,而与哺乳类和鸟类的同源性较低。通过对基因结构比较显示,大黄鱼I-FABP结构与其他物种基因结构相似(表1),且鱼类与哺乳类外显子II和外显子III的保守性较高。

2.2 大黄鱼不同组织中I-FABPb基因的表达差异

采用实时荧光定量PCR方法,以18S作内参对大黄鱼各组织I-FABPb mRNA表达量进行了检测。结果显示,在被检测的肌肉、肝、心、肠、鳃、性腺、脑和胃8个组织中,I-FABPb基因均表达,其中在肠组织中的表达量较高,在其他组织中表达量相对较低(图3)。

2.3 饥饿及复投喂对大黄鱼肠、肌肉和肝中I-FABPb表达的影响

饥饿及复投喂对大黄鱼I-FABPb在肠、肌肉和



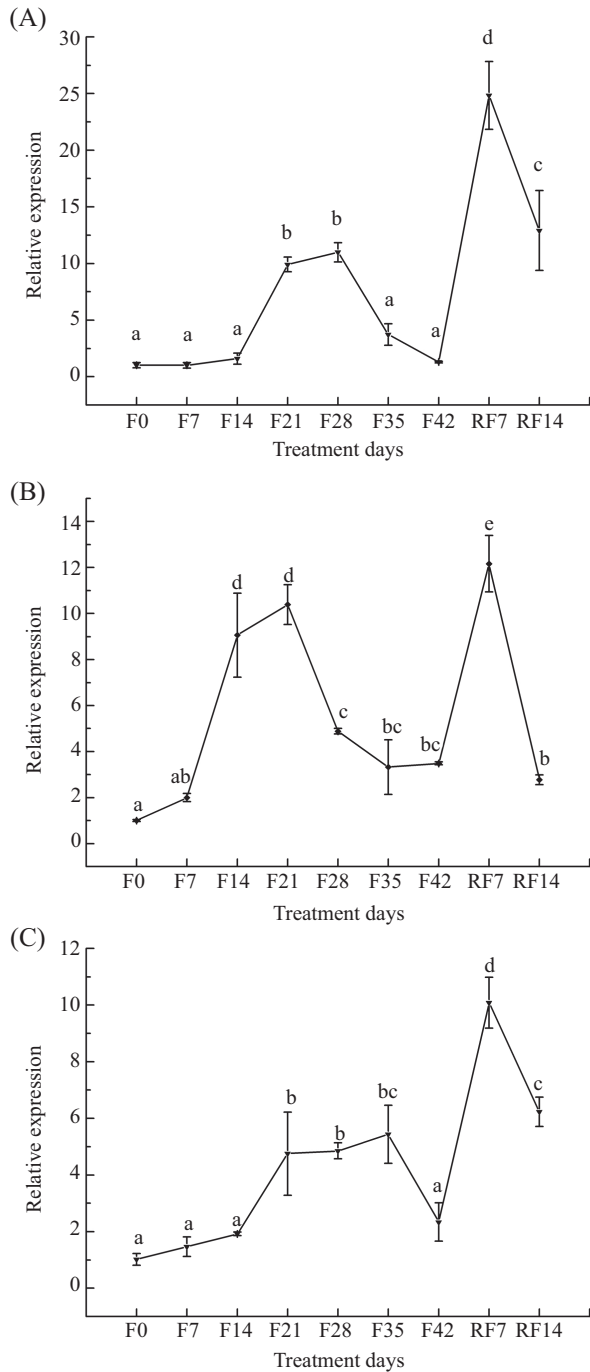
不同字母表示各实验组之间存在显著性差异($P < 0.05$)。下同。

Different letters indicate a significant difference among the experimental groups ($P < 0.05$). The same is in the following figures.

图3 大黄鱼I-FABPb基因在各组织中表达情况

Fig.3 Tissue-specific expression of I-FABPb in *L. crocea*

肝中的表达均有显著性的影响(图4)。在肠组织中,在饥饿处理阶段,I-FABPb表达量呈现了先上升后下降的趋势,在饥饿28 d(F28)时表达量达到最高,约为



F0、F7、F14、F21、F28、F35和F42分别表示饥饿0、7、14、21、28、35、42 d; RF7和RF14分别表示复投喂7 d和14 d。

F0, F7, F14, F21, F28, F35 and F42 represented 0, 7, 14, 21, 28, 35 and 42 days of fasting, respectively; RF7 and RF14 represented 7 days and 14 days after re-feeding, respectively.

图4 饥饿及复投喂对大黄鱼肠(A)、肌肉(B)和肝(C)组织中 *I-FABPb*基因表达的影响

Fig.4 Effects of fasting and refeeding on the expression of *I-FABPb* in *L. crocea* intestines (A), muscle (B) and liver (C) tissues

饥饿0 d(F0)表达量的11倍, 饥饿42 d(F42)时表达量下降至初始水平。复投喂后7 d(RF7), *I-FABPb*表达

量急剧上升($P<0.05$), 达到初始水平的24.8倍, 复投喂14 d(RF14), 其表达量下降($P<0.05$), 但仍高于对照组水平。

在肌肉组织中, 饥饿至21 d(F21), *I-FABPb*表达量达到最高, 随着饥饿时间的延长, 其表达量开始下降, 在饥饿42 d(F42)时, 表达量降至初始水平。复投喂后7 d(RF7), *I-FABPb*表达量快速升高并显著高于饥饿处理组水平($P<0.05$), 复投喂14 d(RF14), 表达量显著下降, 但仍高于对照组($P<0.05$)。

在肝组织中, 从饥饿处理开始到饥饿35 d(F35), 随着饥饿时间的延长, *I-FABPb*表达量呈上升趋势; 在饥饿42 d(F42)时, 其表达量降低, 接近于初始水平。复投喂后*I-FABPb*表达量显著升高($P<0.05$), 复投喂7 d(RF7)表达量显著高于复投喂14 d(RF14) ($P<0.05$)。

3 讨论

本研究从大黄鱼肠组织中克隆到的DNA序列全长为1 362 bp, 包括4个外显子和3个内含子, 和FABPs基因家族的其他基因结构相似^[23]; 推断的蛋白质分子量为15.4 kDa, 等电点(pI)为6.31。通过对DNA序列和cDNA序列比对, 发现其内含子符合“GT...AG”法则, 这与鱼类其他基因DNA序列特征一致^[24]。推断的氨基酸序列与鲈形目鱼类I-FABP的一致性高达87%, 而和其他型脂肪酸结合蛋白(H-FABP、B-FABP、L-FABP等)一致性较低, 因此确定该基因是大黄鱼的脂肪酸结合蛋白基因。该*I-FABP*基因推断的氨基酸序列与鲤鱼和建鲤的b型I-FABP一致性高达83%, 与a型I-FABP一致性达到79%, 与已公布的两种大黄鱼I-FABP氨基酸序列(XP_010743217和GenBank: KK31601)一致性分别达到99%和76%。已上传的两种大黄鱼I-FABP氨基酸序列并未区分命名, 通过对获得的大黄鱼I-FABP氨基酸序列同其他硬骨鱼氨基酸序列比对及I-FABP氨基酸进化树分析, 将其命名为大黄鱼*I-FABPb*型基因。

I-FABP在哺乳动物、两栖类和海洋生物中有相似的功能, 均能特异性地结合长链脂肪酸并将其输送到氧化位点, 但是在不同物种中, *I-FABP*基因的组织表达模式不同^[4,15-16,25]。研究发现, 哺乳类(人、鼠等)和鸟类(鸡等)*I-FABP*基因仅在肠组织中表达^[3,26-27], 而鱼类的*I-FABP*基因在各个组织中可

以广泛表达^[5,14,26]。本研究采用荧光定量PCR技术检测到大黄鱼*I-FABPb*基因在肌肉、肝、肠和胃等8个组织中均有表达,但在肠中表达量最高,这一结果与斑马鱼、虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)*I-FABPb*的研究结果一致^[14,28],提示*I-FABPb*在大黄鱼肠道脂肪酸的代谢过程中起重要作用。不同于哺乳动物在单一组织中表达的模式,推测*I-FABPb*在鱼类中功能上可能比哺乳动物更为广泛。

调节脂代谢使体内能源平衡是一个复杂的过程,而且需要很多调控系统协调完成。在脂代谢过程中,脂肪酸(fatty acids, FAs)作为信号分子结合到转录因子过氧化物酶体增殖物激活受体(peroxisome proliferators-activated receptors, PPARs)上并使其激活,然后通过转录因子和*FABPs*启动子元件相互作用来诱导*FABPs*基因的转录和翻译^[29]。在本研究中,大黄鱼*I-FABPb*基因在肌肉、肝和肠中的表达都受到了饥饿及复投喂条件的影响。饥饿过程中,*I-FABPb*表达在大黄鱼3个组织中均呈现先上升后下降趋势,推测*I-FABPb*在不同组织中的生物学功能相似,但*I-FABPb*在肠组织中变化最显著,说明*I-FABPb*在肠道脂代谢中起更重要的作用。饥饿初期,大黄鱼肠、肌肉和肝中的*I-FABPb*基因表达均有显著性增加,与瓦氏黄颡鱼饥饿30 d肝中*FABP*基因表达量持续上升的结果一致^[30]。Venold等^[12]研究显示,大西洋鲑肠*I-FABP*基因、*PPAR-α*和*PPAR-γ*基因低蛋白质饲料组比高蛋白质饲料组表达量显著下降,推测*I-FABP*基因表达量的下降可能是由*PPAR-α*和*PPAR-γ*表达量下降导致的。本实验室已有数据显示,35 d饥饿导致大黄鱼肌肉和肝中*PPAR-α*基因表达量均呈现显著上升的趋势,因此推测饥饿早期大黄鱼肠、肌肉和肝中*I-FABPb*表达量上升也是由转录因子*PPAR-α*调控导致的。随着饥饿时间延长,大黄鱼*I-FABPb*基因在肠、肌肉和肝中的表达量分别在饥饿28、21、35 d开始显著下降,在饥饿42 d下降至初始水平。长期饥饿没有脂肪来源会导致大黄鱼组织中脂肪降解产生的FAs大量消耗产生能量,从而导致*I-FABPb*表达量显著降低,当FAs量降低到一定程度时,也会抑制*I-FABPb*的表达,这与Stewart等^[2]陈述*FABP*的丰度和FAs的含量呈正相关的结论一致,但开始抑制*I-FABPb*表达的FAs浓度有待进一步研究。Tian等^[31]研究显示,饥饿胁迫使尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)脂肪分解关键酶脂蛋白脂酶(lipoprotein lipase,

LPL)基因在肝组织中表达量也呈先上升后下降的趋势,和本研究结果相似。

许多鱼类在复投喂后,在恢复生长中会出现补偿生长现象,补偿生长的机制主要有三种观点^[32]。第一种观点认为,饥饿使动物代谢水平降低,恢复进食后会继续维持一段时间较低代谢水平,这种代谢支出的降低使用于生长的能量比例增高,从而提高食物转化率,出现了补偿生长,虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)^[33]和大西洋鲑(*Clupea harengus*)^[34]恢复生长的实验结果与该种观点相符。第二种观点认为,饥饿后恢复喂食时,鱼类体内将立即进行大量的合成反应,代谢水平迅速升高,鱼类食欲增强,大幅度提高摄食水平,从而产生补偿生长效应,北极红点鲑(*Salveinus alpinus*)^[35]和南方鲇(*Silurus meridionalis*)^[36]的恢复生长实验结果与该种观点相符。第三种观点认为,动物在恢复喂食阶段不仅增加食欲,提高摄食水平,同时改善了食物转化率,因此,补偿生长是这两种生理因素共同作用的结果,异育银鲫(*Carassius auratus gibelio*)^[37]饥饿处理后恢复生长的实验结果支持该观点。大黄鱼饥饿处理之后进行复投喂,*I-FABPb*表达量显著升高;在复投喂14 d时,*I-FABPb*在肠、肌肉和肝组织中的表达量均出现下降的趋势,但仍高于饥饿实验开始时的水平。推测大黄鱼在饥饿刺激后,复投喂使其代谢增强,体内游离脂肪酸摄入大量增加,脂肪代谢水平显著提高,出现了补偿性生长现象,类似于北极红点鲑和南方鲇。

肌肉组织*I-FABPb*表达量在28 d开始下降,而肠和肝组织中*I-FABPb*分别在饥饿35 d和42 d开始下降,说明饥饿过程中肝组织的脂肪代谢能力最强,其次是肠道,肌肉组织的代谢能力最弱,这和罗非鱼饥饿条件下肝是主要的能量代谢器官的研究结果一致^[30]。本研究通过检测*I-FABPb*在各组织中表达情况及饥饿及复投喂条件下在肠、肌肉和肝组织表达差异,说明*I-FABPb*在肠道脂代谢过程中起着更为重要的作用,为进一步研究*I-FABPb*提供了理论基础。

参考文献 (References)

- Ockner RK, Manning JA, Poppenhausen RB, Ho WK. A binding protein for fatty acid in cytosol of intestinal mucosa, liver, myocardium, and other tissues. *Science* 1972; 177(4043): 56-8.
- Stewart JM. The cytoplasmic fatty-acid-binding proteins: Thirty years and counting. *Cell Mol Life Sci* 2000; 57(10): 1345-59.
- Kaikaus RM, Bass NM, Ockner RK. Functions of fatty acid binding proteins. *Experientia* 1990; 46(6): 617-30.

- 4 Pierce M, Wang YM, Denovan-Wright EM, Wright JM. Nucleotide sequence of a cDNA clone coding for an intestinal-type fatty acid binding protein and its tissue-specific expression in zebrafish (*Danio rerio*). *Biochim Biophys Acta* 2000; 1490(1/2): 175-83.
- 5 覃川杰, 陈立桥, 李二超, 禹娜, 杨莹, 姜雪芹. 瓦氏黄颡鱼脂肪酸结合蛋白基因cDNA片段的克隆及分析. *福建农林大学学报(自然科学版)*(Qin Chuanjie, Chen Liqiao, Li Erchao, Yu Na, Yang Ying, Jiang Xueqin. Molecular cloning and analysis of fatty acid binding protein partial cDNA in darkbarbel catfish, *Pelteobagrus vachelli*. *Journal of Fujian Agriculture and Forestry University, Nature Science Edition*) 2012; 41(3): 259-65.
- 6 Zhang FL, Lücke C, Baier LJ, Sacchettini JC, Hamilton JA. Solution structure of human intestinal fatty acid binding protein: Implications for ligand entry and exit. *J Biomol NMR* 1997; 9(3): 213-28.
- 7 Klapper M, Böhme M, Nitz I, Döring F. Transcriptional regulation of the fatty acid binding protein 2 (FABP2) gene by the hepatic nuclear factor 1 alpha (HNF-1 α). *Gene* 2008; 416(1/2): 48-52.
- 8 Agellon LB, Drozdowski L, Li L, Iordache C, Luong L, Claudinin MT, *et al.* Loss of intestinal fatty acid binding protein increases the susceptibility of male mice to high fat diet-induced fatty liver. *Biochem Biophys Acta* 2007; 1771(10): 1283-8.
- 9 Agellon LB, Toth MJ, Thomson AB. Intracellular lipid binding proteins of the small intestine. *Mol Cell Biochem* 2002; 239(1/2): 79-82.
- 10 Chen XW, Jiang S, Shi ZY. Identification and expression analysis of Fabp2 gene from common carp *Cyprinus carpio*. *J Fish Biol* 2012; 80(3): 679-91.
- 11 夏正龙, 俞菊华, 李红霞, 李建林, 唐永凯, 任洪涛, 等. 建鲤肠型脂肪酸结合蛋白基因分离及其SNPs与增重的相关分析. *遗传*(Xia Zhenglong, Yu Juhua, Li Hongxia, Li Jianlin, Tang Yongkai, Ren Hongtao, *et al.* Sequences analysis of jIFABP2 and the correlation between polymorphisms and body weight gain in *Cyprinus carpio* var jian. *Hereditas*) 2013; 35(5): 628-36.
- 12 Venold FF, Penn MH, Thorsen J, Gu J, Kortner TM, Krogdahl A, *et al.* Intestinal fatty acid binding protein (fabp2) in *Atlantic salmon* (*Salmo salar*): Localization and alteration of expression during development of diet induced enteritis. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 2013; 164(1): 229-40.
- 13 Lai YY, Lubieniecki KP, Phillips RB, Chow W, Koop BF, Davidson WS. Genomic organization of *Atlantic salmon* (*Salmo salar*) fatty acid binding protein (fabp2) genes reveals independent loss of duplicate loci in teleosts. *Mar Genomics* 2009; 2(3/4): 193-200.
- 14 Sharma MK, Denovan-Wright EM, Degraeve A, Thisse C, Thisse B, Wright JM. Sequence, linkage mapping and early developmental expression of the intestinal-type fatty acid-binding protein gene (fabp2) from zebrafish (*Danio rerio*). *Comp Biochem Physiol B Mol Biol* 2004; 138(4): 391-8.
- 15 姜延志, 李学伟. 猪I-FABP基因的分子克隆及组织特异性表达分析. *遗传学报*(Jiang Yanzhi, Li Xuwei. Molecular cloning and tissue-specific expression of intestinal-type fatty acid binding protein in porcine. *Acta Genetica Sinica*) 2006; 33(2): 125-32.
- 16 Shi YB, Hayes WP. Thyroid hormone-dependent regulation of the intestinal fatty acid-binding protein gene during amphibian metamorphosis. *Dev Biol* 1994; 161(1): 48-58.
- 17 Trevaskis NL, Lo CM, Ma LY, Tso P, Irving HR, Porter CJ, *et al.* An acute and coincident increase in FABP expression and lymphatic lipid and drug transport occurs during intestinal infusion of lipid-based drug formulations to rats. *Pharm Res* 2006; 23(8): 1786-96.
- 18 Pu LX, Igbavboa U, Wood G, Roths JB, Kier AB, Spener F. Expression of fatty acid binding proteins is altered in aged mouse brain. *Mol Cell Biochem* 1999; 198(1/2): 69-78.
- 19 Zhang XD, Zhu YF, Cai LS, Wu TX. Effects of fasting on the meat quality and antioxidant defenses of market-size farmed large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*). *Aquaculture* 2008; 280(1/4): 136-9.
- 20 Einen O, Thomassen MS. Starvation prior to slaughter in *Atlantic salmon* (*Salmo salar*) II. White muscle composition and evaluation of freshness, texture and colour characteristics in raw and cooked fillets. *Aquaculture* 1998; 169(1/2): 37-53.
- 21 Sweetser DA, Lowe JB, Gordon JI. The nucleotide sequence of the rat liver fatty acid-binding protein gene. Evidence that exon I encodes an oligopeptide domain shared by a family of proteins which bind hydrophobic ligands. *J Biol Chem* 1986; 261(12): 5553-61.
- 22 Sweetser DA, Birkenmeier EH, Klisak IJ, Zollman S, Sparkes RS, Mohandas T, *et al.* The human and rodent intestinal fatty acid binding protein genes: A comparative analysis of their structure, expression, and linkage relationships. *J Biol Chem* 1987; 262(33): 16060-71.
- 23 Zimmerman AW, Veerkamp JH. New insights into the structure and function of fatty acid-binding proteins. *Cell Mol Life Sci* 2002; 59(7): 1096-116.
- 24 薛良义, 李婷, 杨巧一, 肖章奎. 眼斑拟石首鱼肌肉生长抑制素基因克隆及组织表达分析. *海洋学报*(Xue Liangyi, Li Ting, Yang Qiaoyi, Xiao Zhangkui. Cloning and tissue expression analysis of the myostatin gene in the red drum, *Sciaenops ocellatus*. *Acta Oceanologica Sinica*) 2008; 30(3): 95-101.
- 25 Stewart JM, Carlin RC, MacDonald JA, Iderstine SV. Fatty acid binding proteins and fatty acid catabolism in marine invertebrates: Peroxisomal β -oxidation. *Invertebr Reprod Dev* 1994; 25(1): 73-82.
- 26 Yamamoto T, Yamamoto A, Watanabe M, Matsuo T, Yamazaki N, Kataoka M, *et al.* Classification of FABP isoforms and tissues based on quantitative evaluation of transcript levels of these isoforms in various rat tissues. *Biotechnol Lett* 2009; 31(11): 1695-701.
- 27 Hughes AL, Piontkivska H. Evolutionary diversification of the avian fatty acid-binding proteins. *Gene* 2011; 490(1/2): 1-5.
- 28 Bayır M, Bayır A, Wright JM. Divergent spatial regulation of duplicated fatty acid-binding protein (fabp) genes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comp Biochem Physiol D* 2015; 14: 26-32.
- 29 Chmurzyńska A. The multigene family of fatty acid-binding proteins (FABPs): Function, structure and polymorphism. *J Appl Genet* 2006; 47(1): 39-48.
- 30 覃川杰, 邵婷, 杨洁萍, 龚全, 李丽娟. 饥饿胁迫对瓦氏黄颡鱼脂肪代谢的影响. *水生生物学报*(Qin Chuanjie, Shao Ting, Yang Jieping, Gong Quan, Li Lijuan. The effect of starvation on lipid metabolism of darkbarbel catfish, *Pelteobagrus vachelli*. *Acta Hydrobiologica Sinica*) 2015; 39(1): 58-65.
- 31 Tian J, Wen H, Zeng LB, Jiang M, Wu F, Liu W, *et al.* Changes

- in the activities and mRNA expression levels of lipoprotein lipase (LPL), hormone-sensitive lipase (HSL) and fatty acid synthetase (FAS) of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) during fasting and re-feeding. *Aquaculture* 2013; 400-401(6): 29-35.
- 32 王永生. 鱼类补偿性生长研究. 海洋水产研究(Wang Yongsheng. Studies on fish compensatory growth. *Marine Fisheries Research*) 2002; 23(3): 57-61.
- 33 Dobson SH, Holmes RM. Compensatory growth in the rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *J Fish Biol* 1984; 25: 649-56.
- 34 Reimers E, Kjørrejord AG, Stavostrand SM. Compensatory growth and reduced maturation in second sea winter farmed *Atlantic salmon* following starvation in February and March. *J Fish Biol* 1993; 43: 805-10.
- 35 Miglavs I, Jobling M. Effects of feeding regime on food consumption, growth rates and tissue nucleic acids in juvenile Arctic charr, *Salvelinus alpinus*, with particular respect to compensatory growth. *J Fish Biol* 1989; 34(6): 947-57.
- 36 邓利, 张波, 谢小军. 南方鲇继饥饿后的恢复生长. 水生生物学报(Deng Li, Zhang Bo, Xie Xiaojun. The recovery growth in the southern catfish (*Silurus meridionalis*) following starvation. *Acta Hydrobiologica Sinica*) 1999; 23(2): 167-73.
- 37 崔正贺, 王岩. 不同体重异育银鲫(*Carassius auratus gibelio*)的补偿生长. 海洋与湖沼(Cui Zhenghe, Wang Yan. Compensatory growth in gibel carp (*Carassius auratus gibelio*): the effect of initial body size. *Oceanologia et Limnologia Sinica*) 2007; 38(1): 8-14.