



读书报告

报告人:隋修磊
2016.10.29



Contents lists available at ScienceDirect

Comparative Biochemistry and Physiology, Part D

journal homepage: www.elsevier.com/locate/cbpd



Divergent spatial regulation of duplicated fatty acid-binding protein (*fabp*) genes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)



Mehtap Bayır^{a,b}, Abdulkadir Bayır^{b,c}, Jonathan M. Wright^{b,*}

^a Department of Agricultural Biotechnology, Faculty of Agriculture, Atatürk University, 25240 Erzurum, Turkey

^b Department of Biology, Dalhousie University, Halifax, Nova Scotia B3H 4R2, Canada

^c Department of Aquaculture, Faculty of Fisheries, Atatürk University, 25240 Erzurum, Turkey

目录

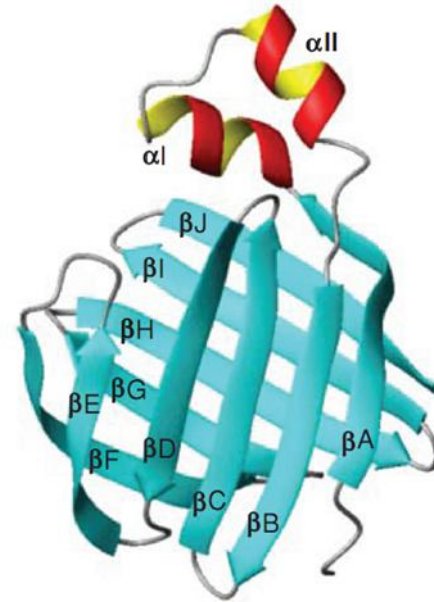


一，背景介绍

- 近年来，水产养殖业迅猛发展。2012年，全球的水产养殖产品达到6660万吨，与2011年相比增加了6.5%。
- 鱼油是传统水产养殖饲料的主要能量来源，但考虑到其产量和价值的限制，植物油替代饲料越来越多的应用到饲料生产中。
- 但是，研究发现过量的植物油添加会对鱼类的脂代谢产生不好的影响，比如会引起鱼脂代谢紊乱，进而导致诸如胰岛素抵抗和脂肪肝等代谢性疾病。

FABPs

- 125-135个氨基酸组成的多肽，长度为15KDa。
- 由4个外显子和3个内含子组成
- 功能：脂肪酸的运输，细胞的生长和分化，全身的脂质和能量代谢。
- 基因结构：




---Esteves, A. and R. Ehrlich, *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*, 2006, etl

Gene name	Common name	Alternative names*	Various expression experiments
<i>FABP1</i>	Liver FABP	<i>L-FABP</i>	liver (Ockner et al. 1982); intestine (Lowe et al. 1985; Sweetser et al. 1987)
<i>FABP2</i>	Intestinal FABP	<i>I-FABP</i>	intestine (Sweetser et al. 1987; Green et al. 1992)
<i>FABP3</i>	Heart FABP	<i>H-FABP</i> ; muscle and heart FABP; mammary-derived growth inhibitor (MDGI)	heart, skeletal muscle, brain, kidney, adrenal gland (Heuckeroth et al. 1987); mammary gland (Kurtz et al. 1994)
<i>FABP4</i>	Adipocyte FABP	<i>A-FABP</i>	adipose tissue (Amri et al. 1991; Bernlohr et al. 1997)
<i>FABP5</i>	Epidermal FABP	<i>E-FABP</i> ; psoriasis-associated FABP (<i>PAFABP</i>)	skin, tongue, adipose tissue, mammary gland, brain, intestine, kidney, liver (Krieg et al. 1993); psoriatic skin (Madsen et al. 1992)
<i>FABP6</i>	Ileal FABP	<i>Il-FABP</i> ; gastrotropin	ileum, ovary (Gong et al. 1994)
<i>FABP7</i>	Brain FABP	<i>B-FABP</i>	brain (Kurtz et al. 1994; Shimizu et al. 1997)
<i>FABP8</i>	Myelin FABP	<i>MP2</i>	peripheral nervous system (Hayasaka et al. 1991)
<i>FABP9</i>	Testis FABP	<i>T-FABP</i>	testis (Okamoto and Morales 1994)

tissue-specific: 9 different FABPs

虹鳟里有哪些FABP,
组织表达水平如何?



- 
- 寻找虹鳟里有哪些FABP
 - 通过RT-PCR分析fabps基因的表达水平
 - 结果表明：虹鳟里有14 个FABP

不同 *fabps* 表达水平差异显著，有的高达 30×10^4 倍。

一些 *fabps* 基因的表达广泛的分布在许多组织中，然而有些 *fabps* 基因的表达被局限在一种或极少的几种组织中。

二，材料和方法

- ① 样品鱼：170g 虹鳟鱼
- ② 虹鳟 *fabps* 基因序列寻找 (BLAST)
- ③ 虹鳟鱼 FABPs 的序列比对 (CLUSTALW) 和系统发育分析 (MEGA5)
- ④ RT-PCR 分析虹鳟 *fabps* 不同组织表达

材料和方法

- RT-PCR反应条件:
 - 预变性 95.0°C 2min
 - 变 性 95.0°C 20 s
 - 退 火 最佳退火温度(见表1) 30s
 - 延 伸 72.0°C 1min
 - 终延伸 72.0°C 5min
- } 35个循环

表1

RT-qPCR primers with optimal annealing temperatures and qPCR efficiencies.

Rainbow trout genes	Forward primer (5' → 3')	Reverse primer (5' → 3')	T _m (°C)	qPCR efficiency
<i>fabp1a</i>	GAGCTGGAGACGTTGACTGG	GGCCCAGCATCATTGTAGCA	57.8	0.97
<i>fabp1b</i>	GAAGGTCAATTCTGTGGTGACGAG	ACATTCGTTTGCTGGTCCTC	54.6	0.98
<i>fabp2a.1</i>	TTGTCGTGAAGGAGGCCAG	ATCTCTGGGCTTCGACTCCATCG	58.9	0.93
<i>fabp2a.2</i>	CGTGAAGGAGGCCAGTTCTT	TTCTCTTGGCTTCGACTCCATCA	62.6	0.99
<i>fabp2b</i>	GTACCTGGGAGATGGATGGA	GCATCCACCCCATCGTAGTT	54.6	0.89
<i>fabp3</i>	ATGAAGGCTCTGGGTGTGG	TCCTTGCCATCCCACITCTG	54.8	1.04
<i>fabp6</i>	GGGAAAAGTTCAAGGCCAC	GCTGGTCTTTTCAGCACGA	57.4	0.94
<i>fabp7b.1</i>	GCACITGGTGTGGTTTTGC	CACITCTIGGCTGTAGTCC	57.2	0.96
<i>fabp7b.2</i>	GCACITGGTGTGGTTTTGC	TAAACATTGGCTGTCTCCCAG	58.1	0.99
<i>fabp10a.1</i>	GGGCCATCTCACTCCAGAAG	CCTGGATGTGTGAATTTG	53.1	1.08
<i>fabp10a.2</i>	GGCCATCTCCCTCCAGAA	CCTGGACGCTGGAGAATTTA	53.2	0.87
<i>fabp10b</i>	AGTTTAAGTGTACTGCCAGACT	GGTGTCAAGAAAAGCCATCC	50.6	0.89
<i>fabp11a</i>	CGACAGAAAAACAATGACCGTT	TATGTCCTCACCCGAACCAC	53.6	0.95
<i>fabp11b</i>	TGCGAAATGTGTATGGA	CATGGTAGGTAAGTGAACAGAT	57.8	0.90
<i>β-actin</i>	CITCTACAACGAGCTGAGGGT	GGTCTCAAACATGATCTGGGT	57.0	0.93
<i>ef1</i>	AAGCAGCTGAGATGGGCAAG	CCTCAAACACTACCCACACCA	58.2	0.97

材料和方法

- 我们按照TRIZOL试剂盒的说明书，使用试剂盒从三条雌鱼和三条雄鱼中的肝脏，肠，幽门盲囊，胃，肌肉，心脏，眼睛，鱼鳔，鳃，肾，皮肤，睾丸，卵巢等组织中提取RNA。在RT-PCR分析中，没有RNA样本是共用的。

三，结果和讨论

1，虹鳟14种不同*fabps*基因的获取

2，虹鳟*fabps*基因同源性分析

3，虹鳟*fabps*在不同组织的表达

1, 虹鳟14种不同*fabps*基因的获取

Rainbow trout gene	Rainbow trout EST	Zebrafish Fabp
<i>fabp1a</i>	CR371215.2	NP_001038177 (Fabp1a)
<i>fabp1b</i>	CR370172.2 and CU063180.1	NP_001019822 (Fabp1b.1)
<i>fabp2a.1</i>	MMSRT107A_scaff_3056_1 ^a	NP_571506 (Fabp2)
<i>fabp2a.2</i>	BX317932.2	NP_571506 (Fabp2)
<i>fabp2b</i>	BX860658.3	NP_571506 (Fabp2)
<i>fabp3</i>	CA381377.1	NP_694493 (Fabp3)
<i>fabp6</i>	CR942998.1	NP_001002076 (Fabp6)
<i>fabp7b.1</i>	BX082627.2	NP_999972 (Fabp7b)
<i>fabp7b.2</i>	CA369721.1	NP_999972 (Fabp7b)
<i>fabp10a.1</i>	DR696714.1	NP_694492 (Fabp10a)
<i>fabp10a.2</i>	BX871393.3	NP_694492 (Fabp10a)
<i>fabp10b</i>	BX912954.3	XP_003200455 (Fabp10b)
<i>fabp11a</i>	CF752694.1	NP_001004682 (Fabp11a)
<i>fabp11b</i>	CU065876.1 and CX723086.1	NP_001018394 (Fabp11a)
<i>β-actin</i>	AJ438158.1	
<i>ef1</i>	NM_001124339.1	

用斑马鱼 *fabps* 序列作为种子序列，在NCBI中搜寻虹鳟的 *fabps*，得到14个 *fabps*。

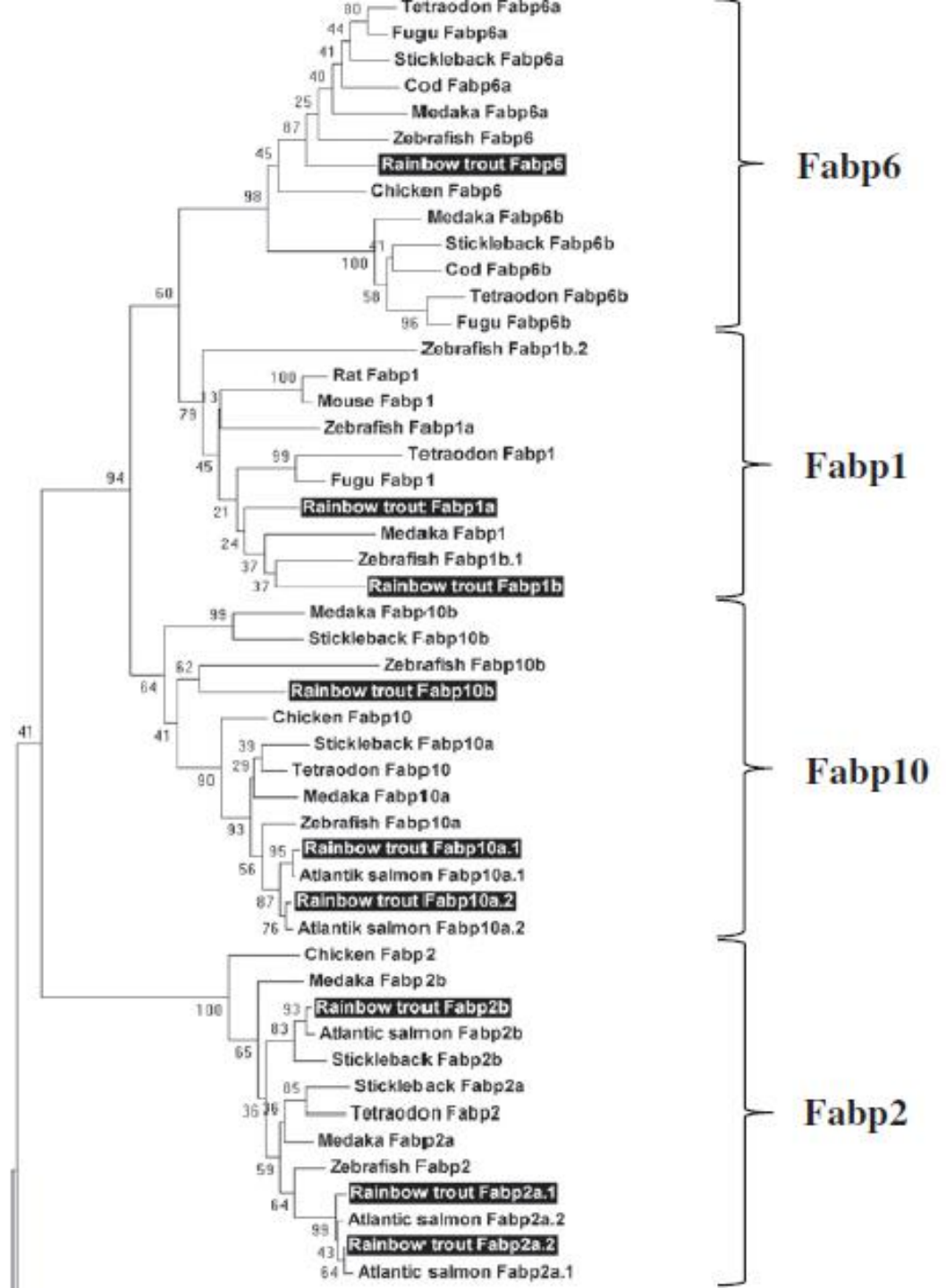
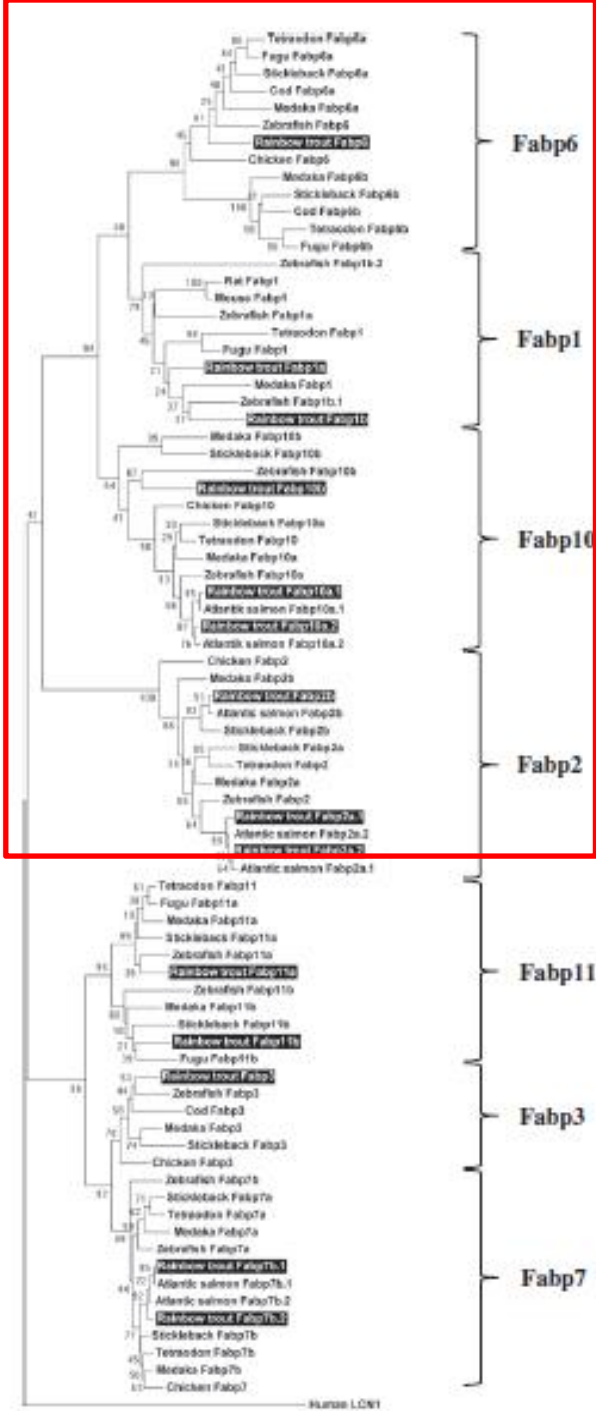
- 迄今为止，这代表硬骨鱼类一套完整的 *fabps* 基因（7种FABP）。此外，*fabp4*，*fabp5*，*fabp8*和*fabp9*基因仅出现在四足动物类，而*fabp12*仅出现在哺乳类中。

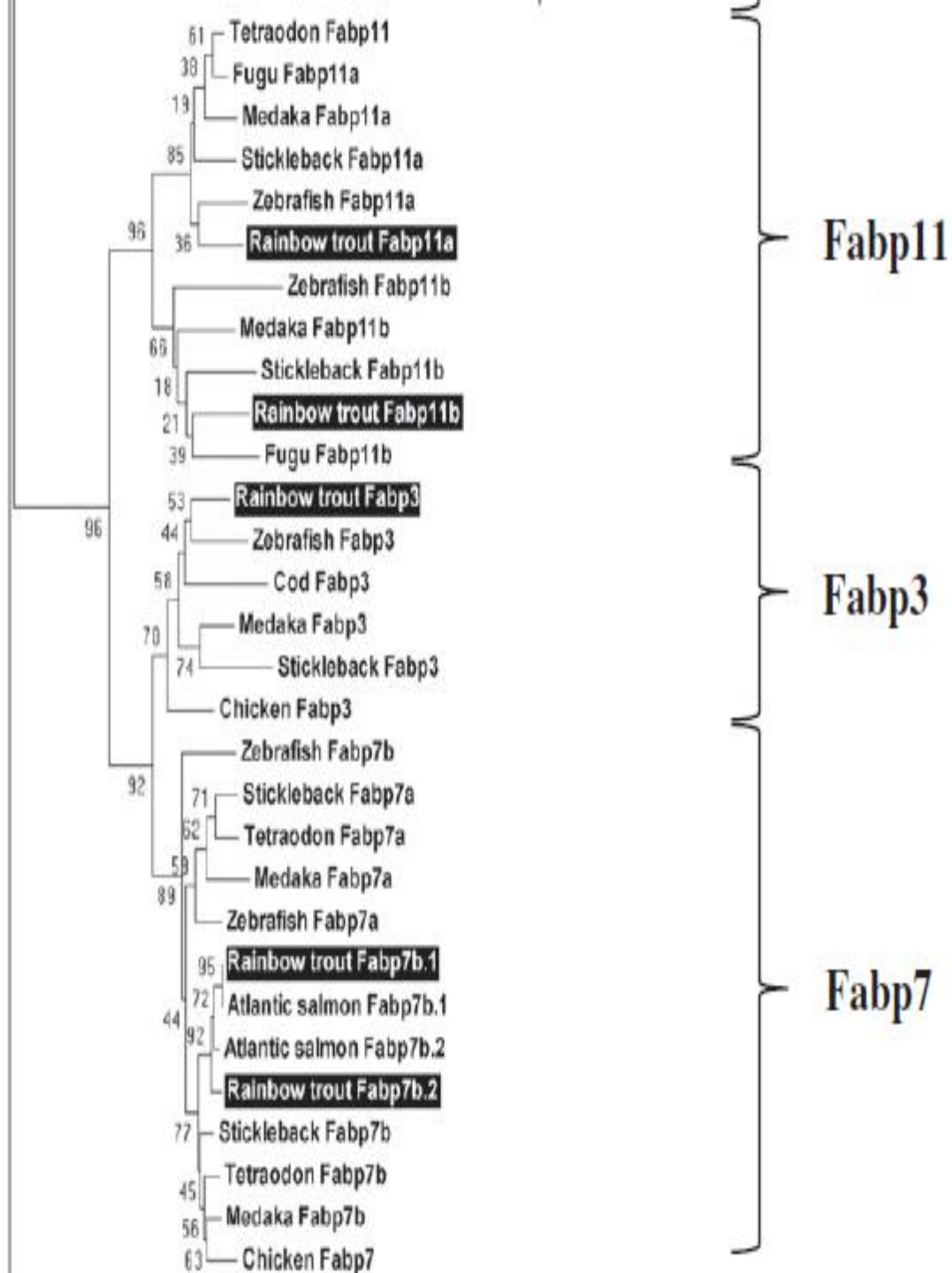
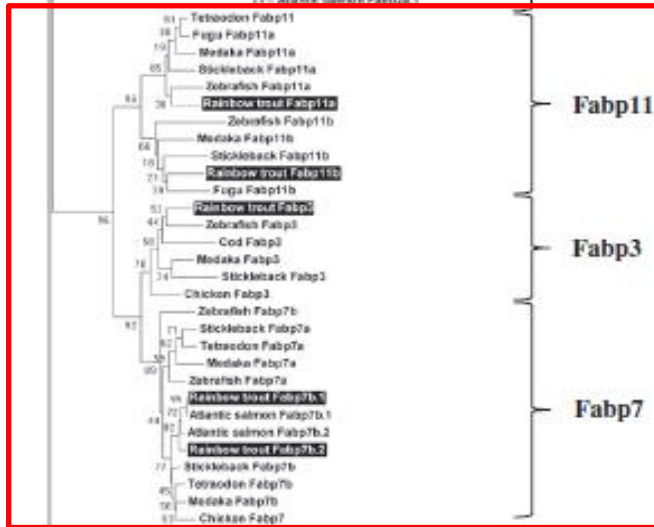
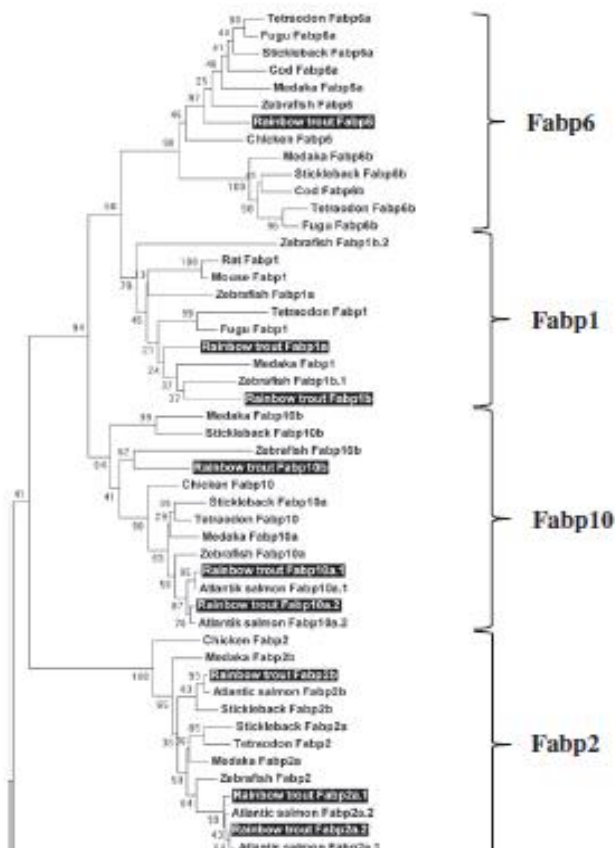
Isoelectric point (pI) of Fabp10 polypeptides from teleost fishes and chicken.

Species	Protein	pI
Rainbow trout	Fabp10a.1	8.89
Rainbow trout	Fabp10a.2	7.70
Zebrafish	Fabp10a	8.87
Zebrafish	Fabp10b	5.94
Atlantic salmon	Fabp10a.1	8.52
Atlantic salmon	Fabp10a.2	8.53
Medaka	Fabp10a	8.40
Medaka	Fabp10b	7.77
Tilapia	Fabp10a	7.74
Tilapia	Fabp10b	8.31
Catfish	Fabp10	9.10
Chicken	Fabp10	9.00

2, 虹鳟fabp基因同源性分析

- 利用CLUSTALW, 将虹鳟的 *fabps* 与其它硬骨鱼鱼的FABPs进行蛋白质多序列比对, 发现虹鳟的FABPs对应蛋白具有较高的保守性。
- 为了阐明不同FABPs的亲缘关系, 利用MEGA5构建系统进化树。





3, 虹鳟*fabps*在不同组织的表达

➤ 不同组织中 *fabps* 表达的水平不同。

已有表明, *fabps* 基因表达存在组织特异性, 某些 *fabps* 基因 (如 *fabp3*) 的广泛存在与大部分组织中, 而有的基因 (如 *fabp6*) 仅存在于特定组织中。

➤ 不同性别 *fabps* 基因的表达差异不显著。

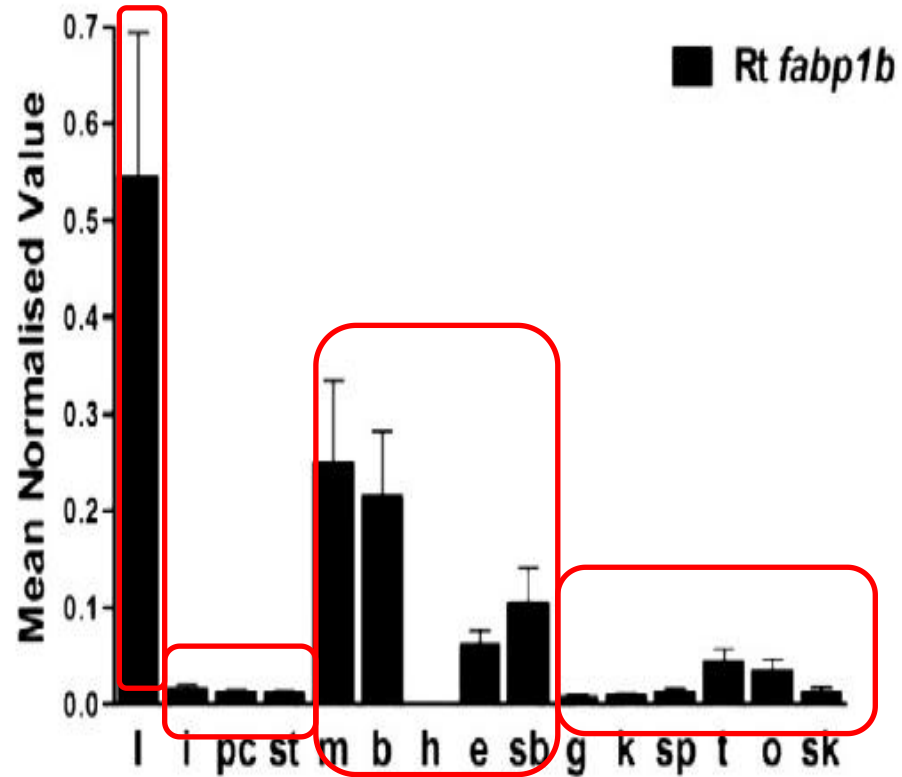
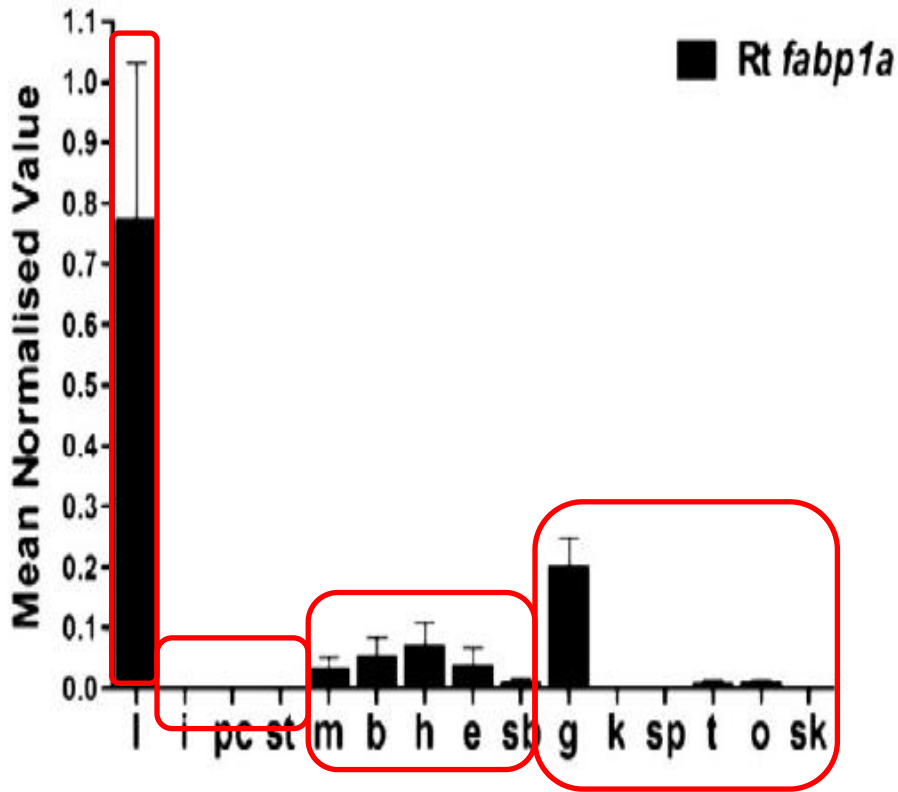
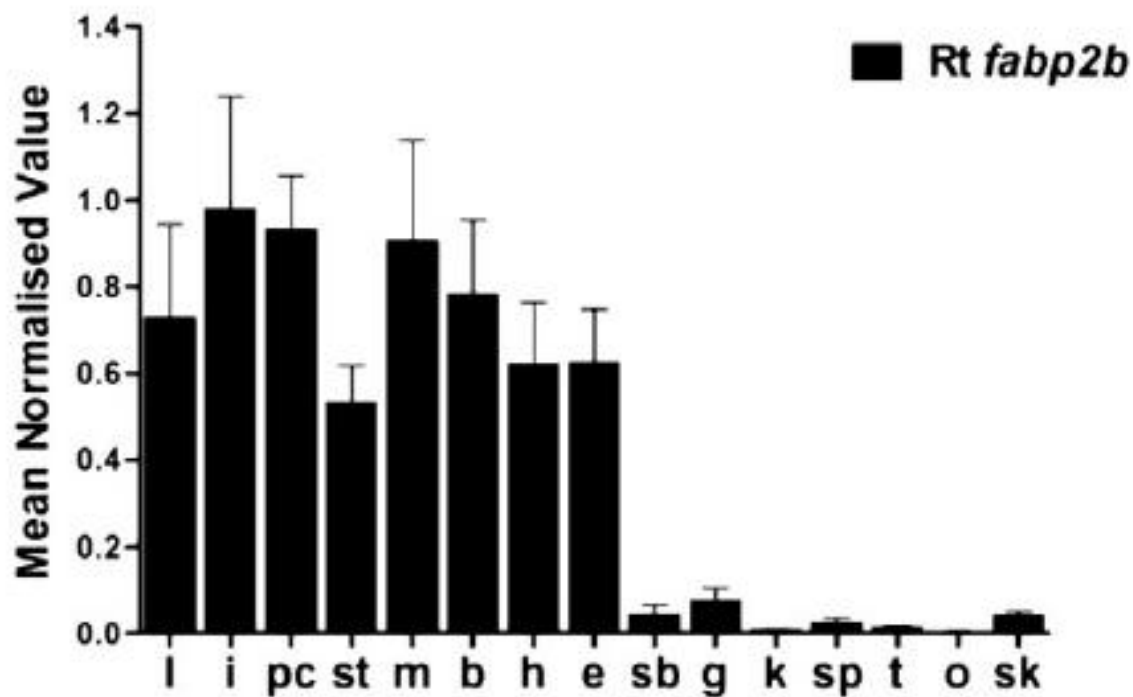
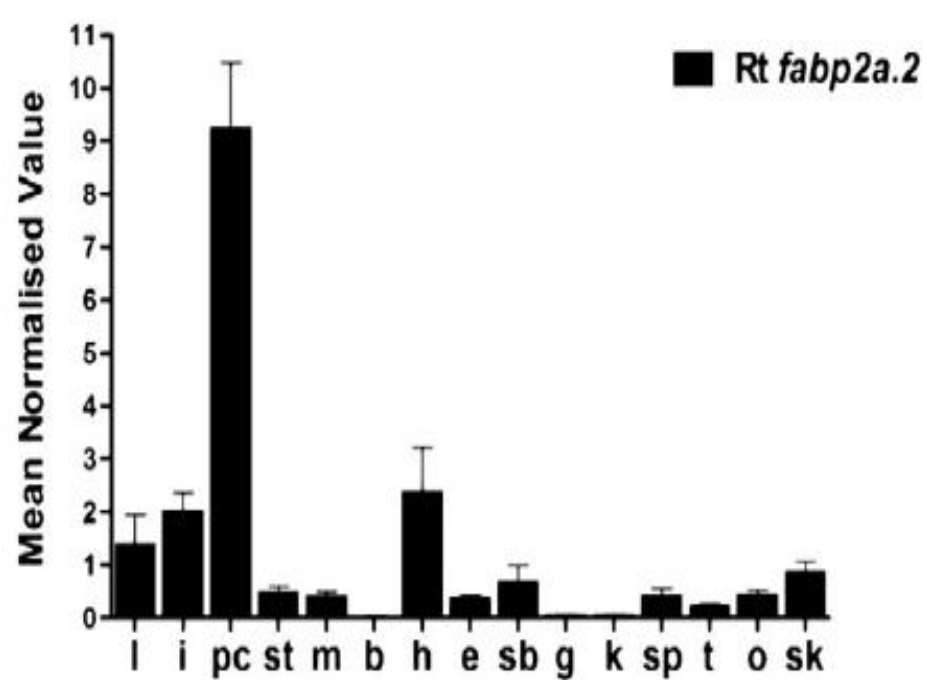
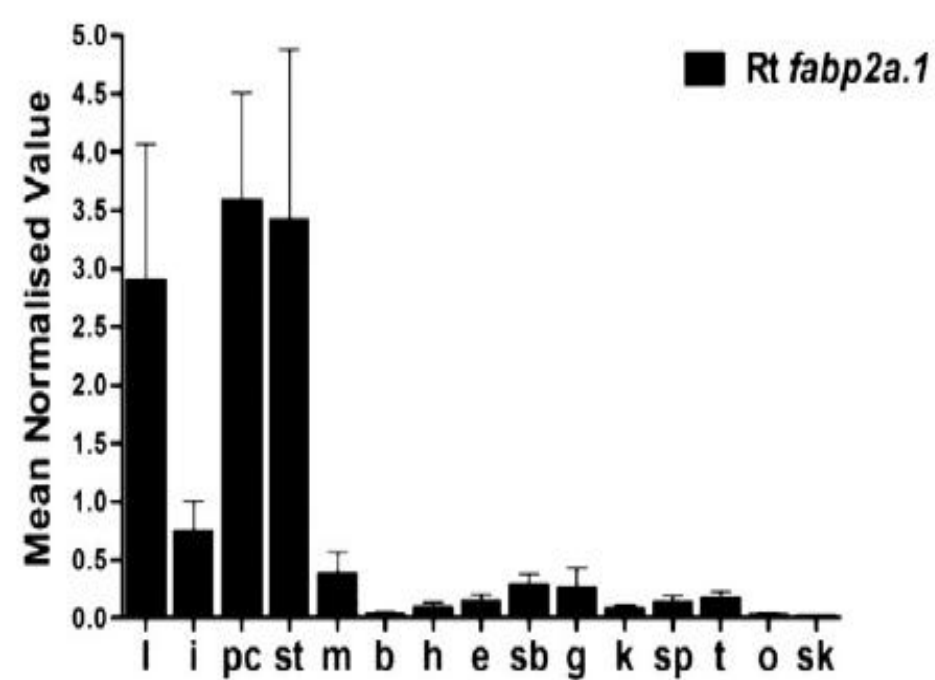
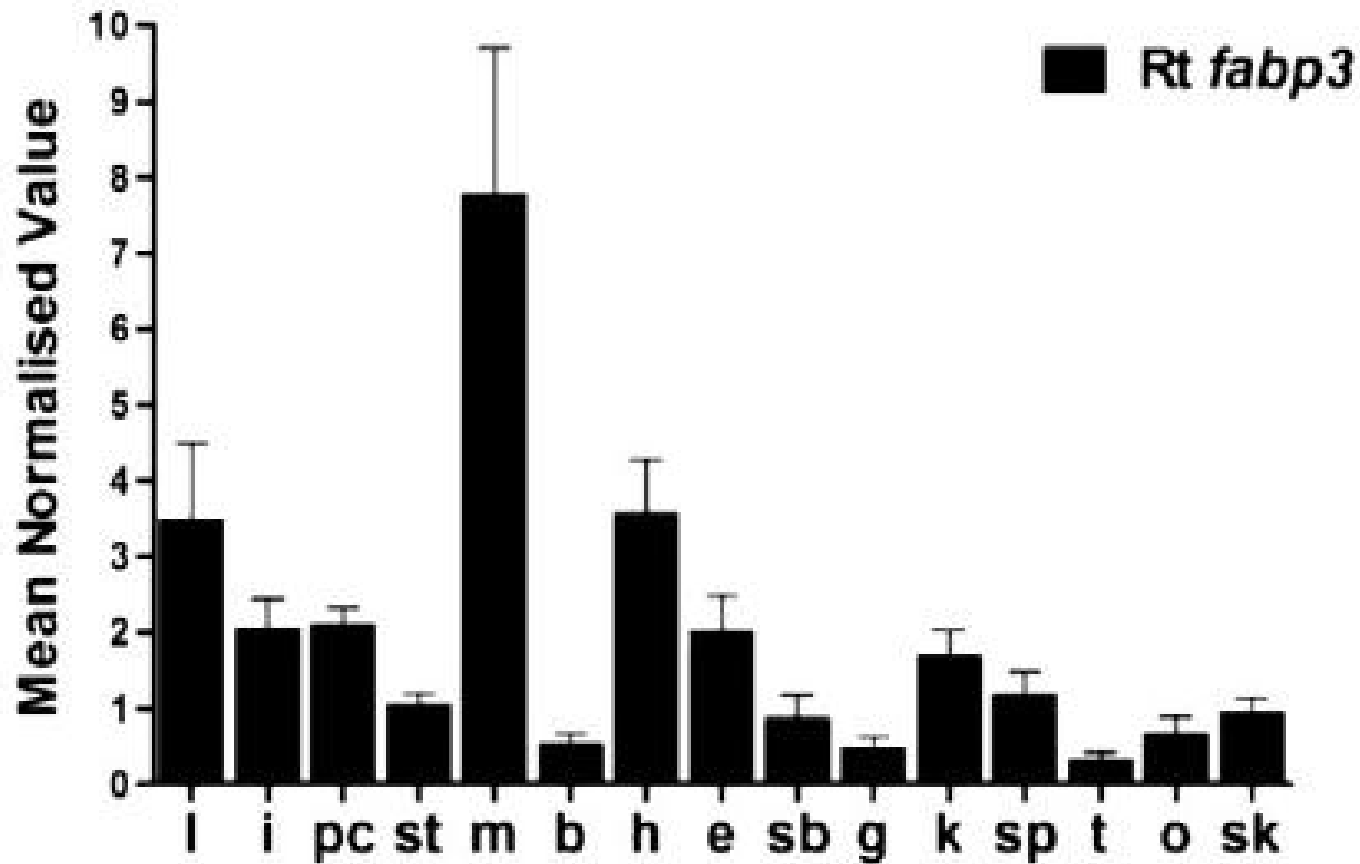
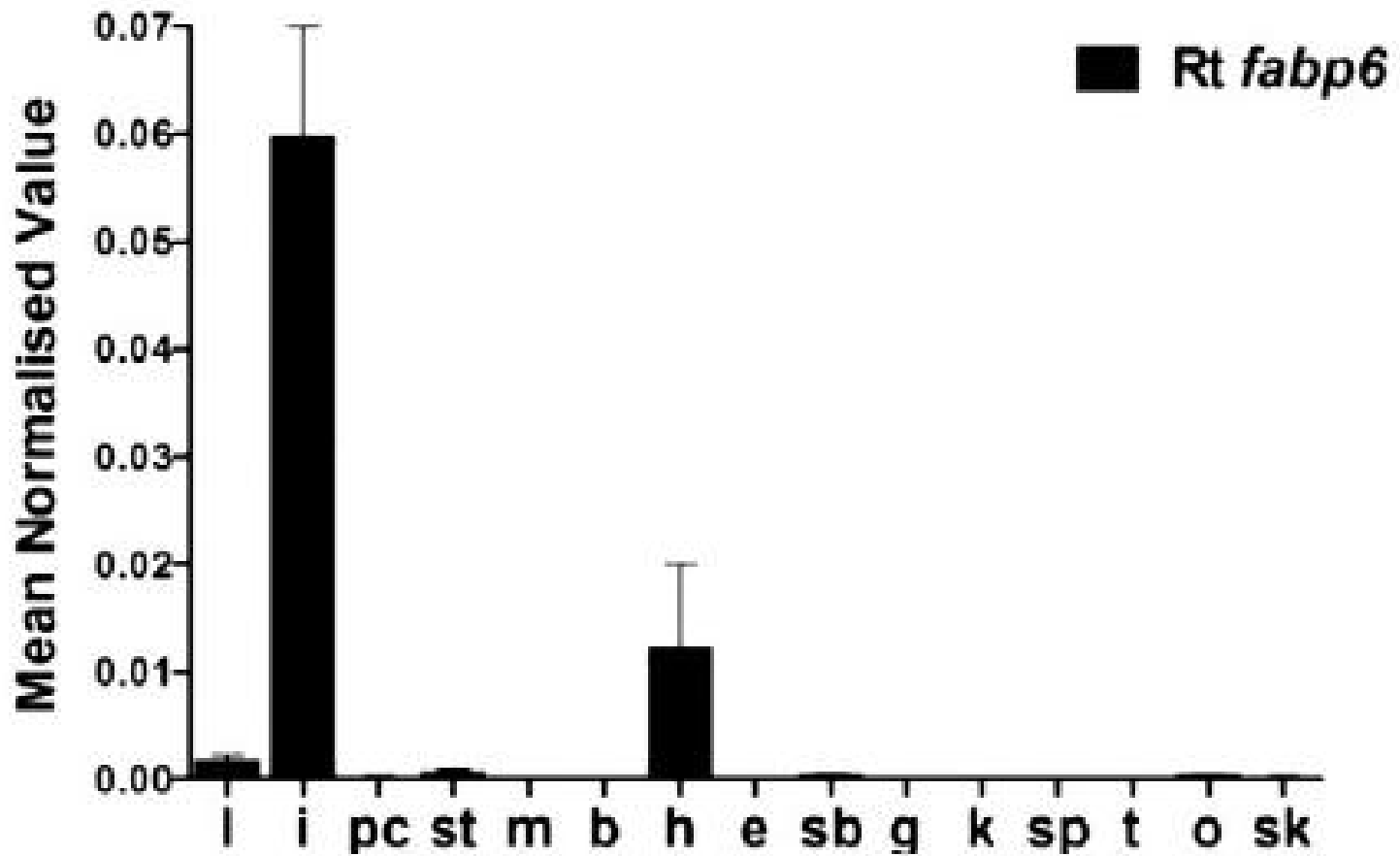
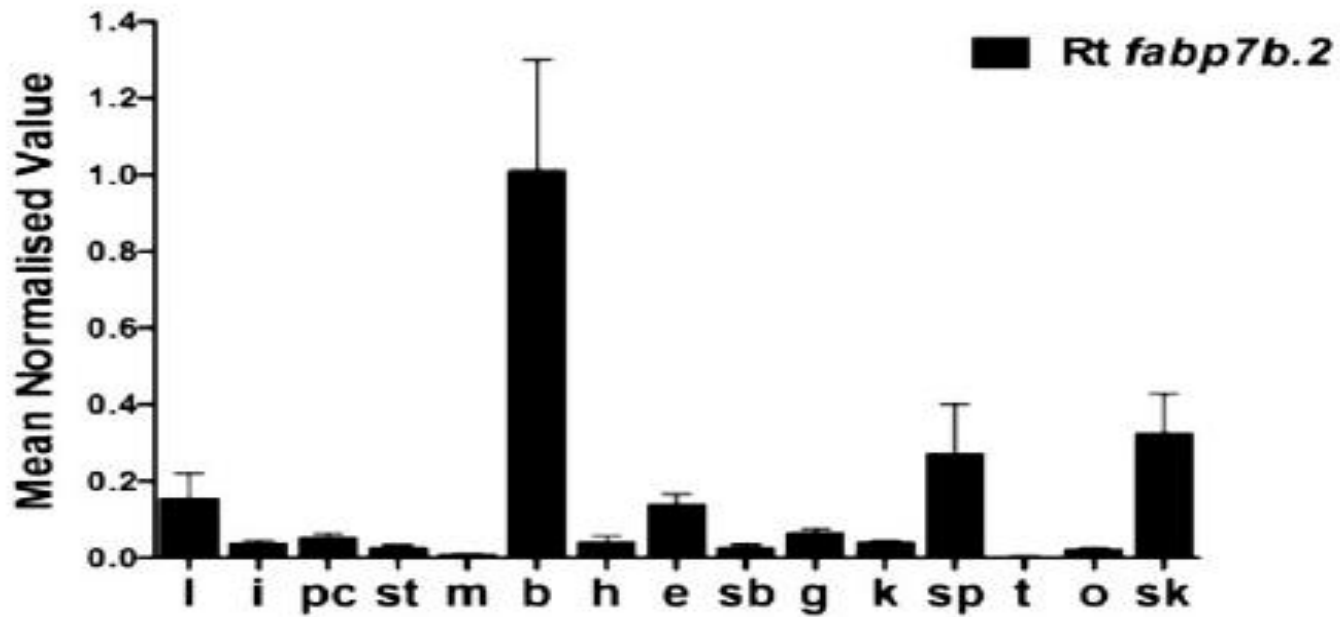
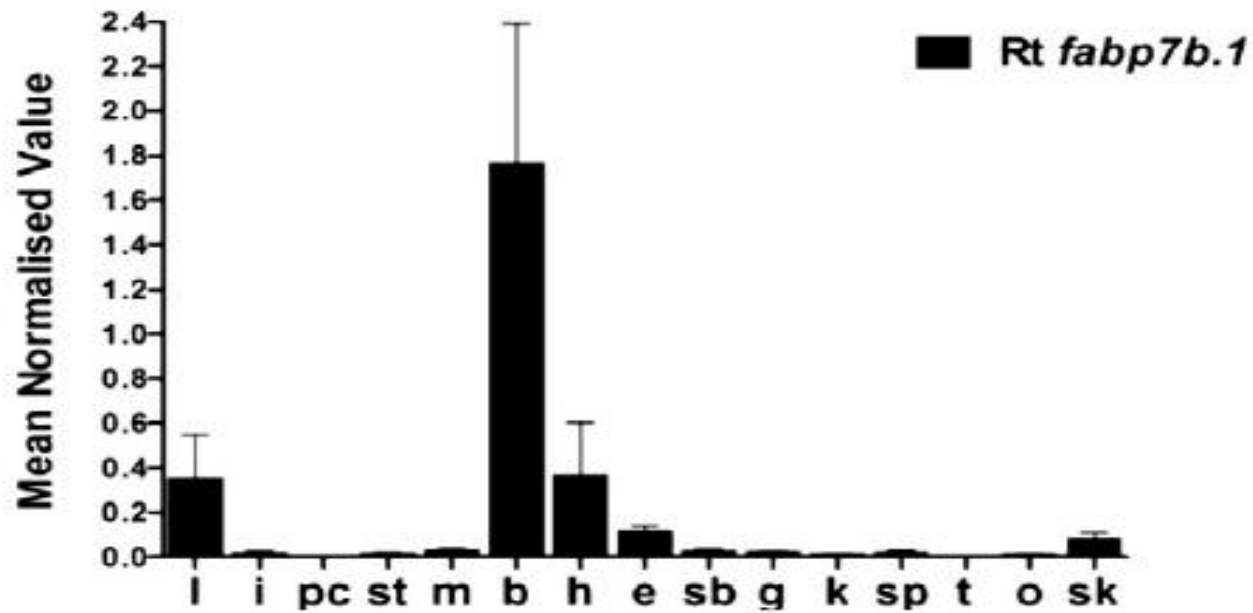


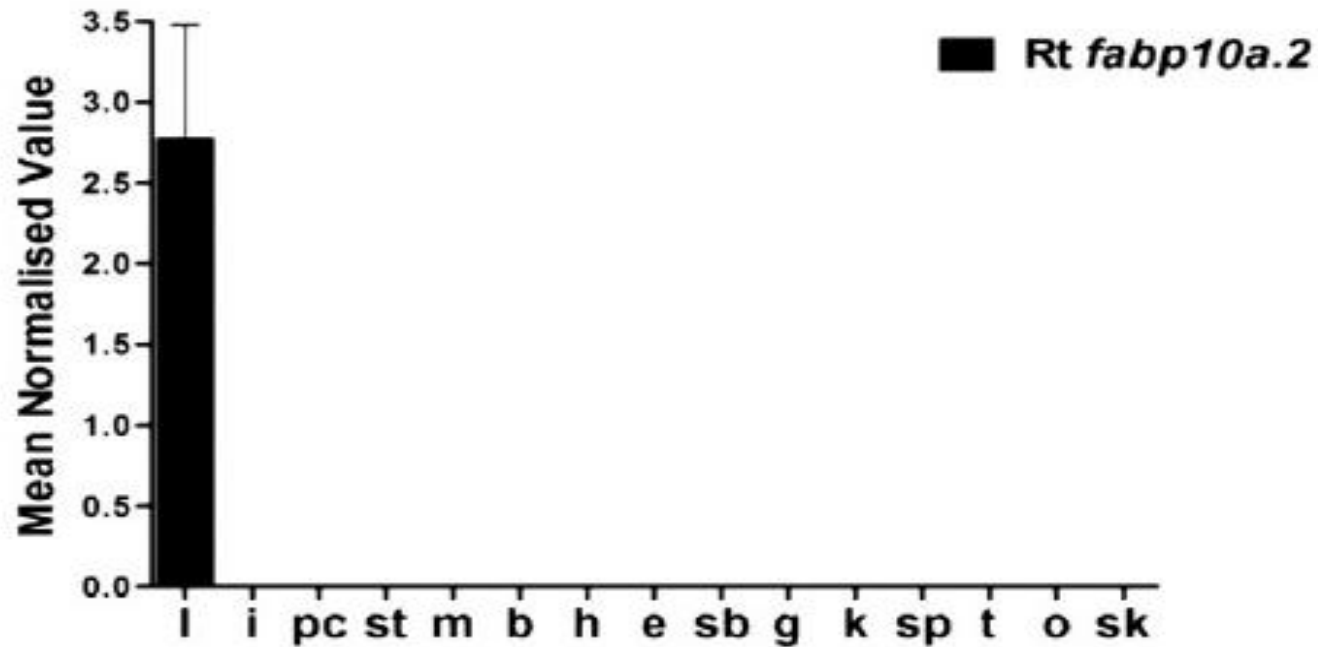
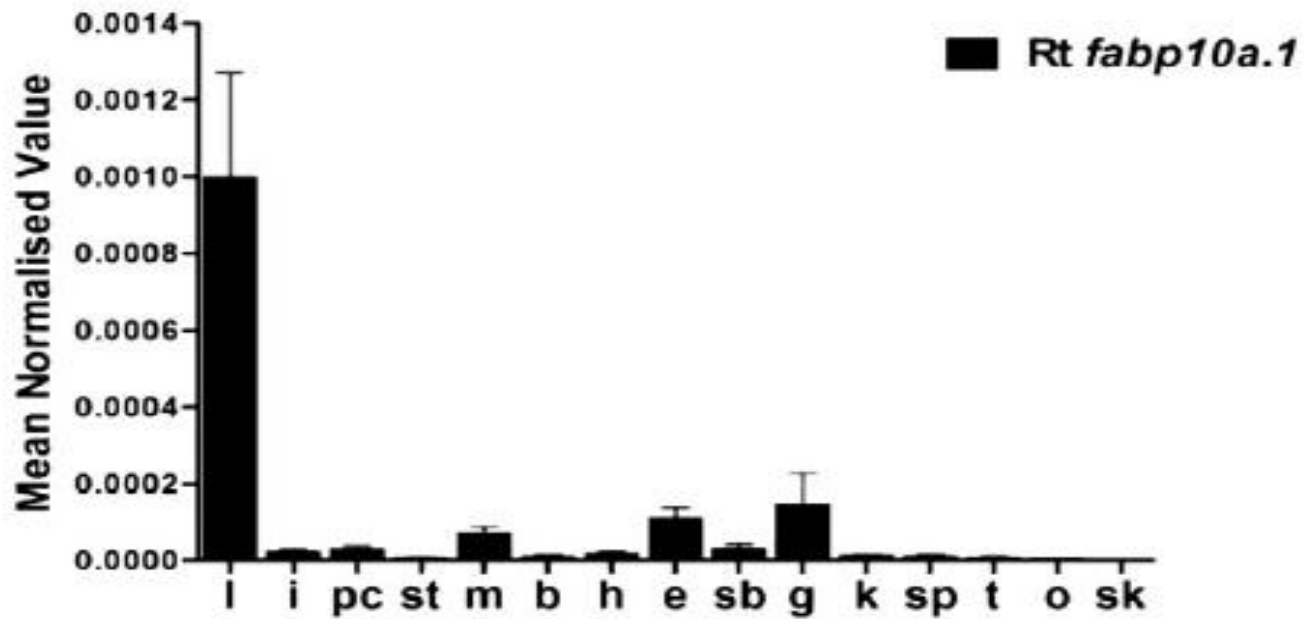
Fig. 2. Steady-state levels of *fabp* gene transcripts in rainbow trout tissues. Steady-state levels of rainbow trout *fabp* transcripts in liver (l), intestine (i), pyloric caeca (pc), stomach (st), muscle (m), brain (b), heart (h), eye (e), swim bladder (sb), gill (g), kidney (k), spleen (sp), testis (t), ovary (o) and skin (sk). Values are presented as mean \pm SEM of six fish (three male and three female) except three for ovary and testis where three fish of each sex were used.

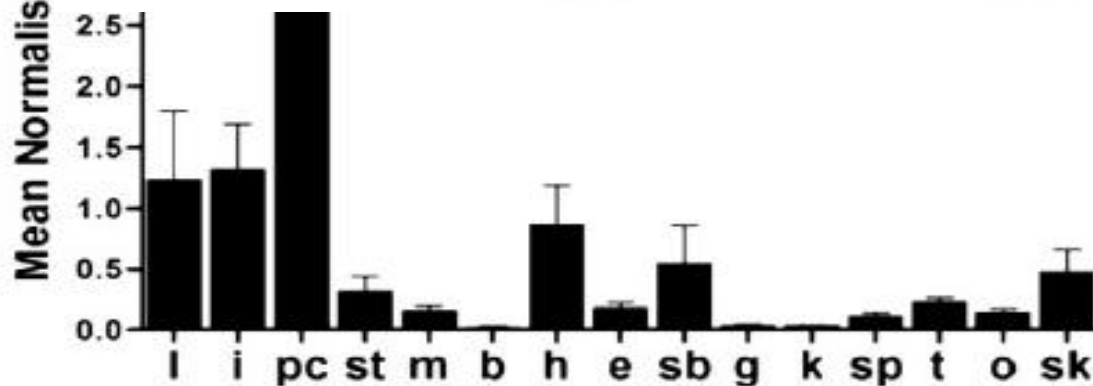
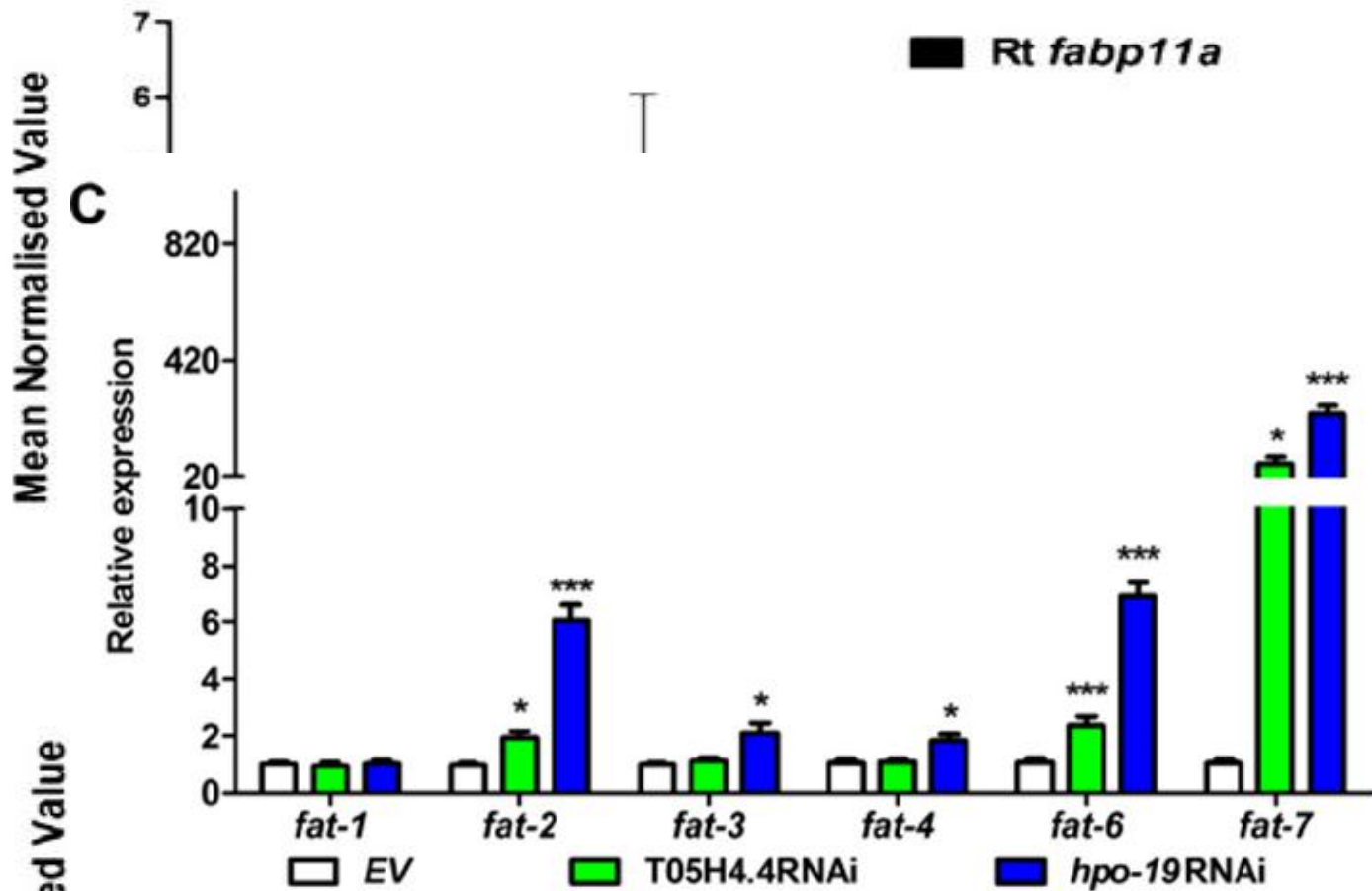




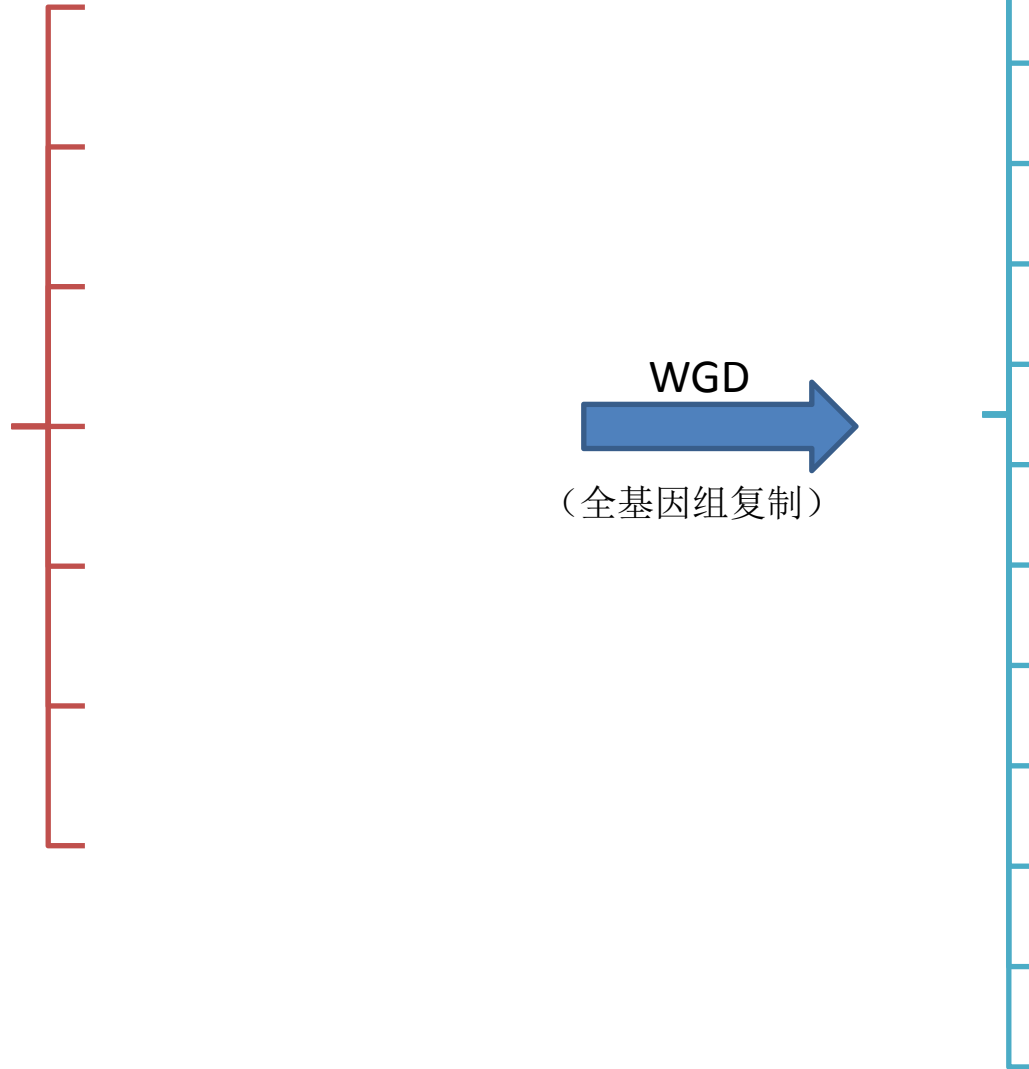








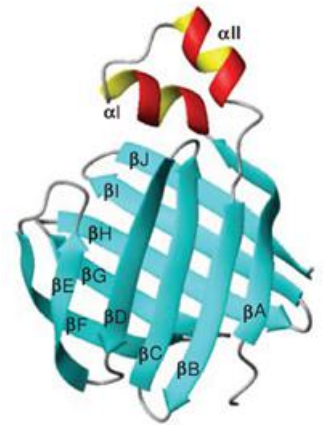
总结



不同组织中
fabps
表达的水平不同

What can we do?

- 特定基因/蛋白功能比较研究
- 主要经济鱼类比如罗非鱼中**FABP**的分析
- **FABP**的结构生物信息学分析



请老师同学批评指正