

脂肪组织特异性 *PU.1* 敲除小鼠的鉴定及其活体脂肪和肌肉含量分析

庞卫军^{1,2*}, 卫宁¹, 王禹¹, 熊燕¹, 童强², 杨公社¹

(1. 西北农林科技大学 动物脂肪沉积与肌肉发育实验室, 杨凌 712100; 2. 贝勒医学院, 美国 休斯顿 77030)

摘要: 本研究运用基因工程和同源重组等技术, 产生了脂肪组织特异性 *PU.1* 敲除小鼠 (*aP2-cre-PU.1^{f/f}*), 并用 PCR 技术进行基因型判定。Western blot 结果表明, 与 *PU.1^{f/f}* 小鼠相比, *aP2-cre-PU.1^{f/f}* 小鼠脂肪组织 *PU.1* 蛋白表达显著降低, 达到敲除水平。在此基础上, 对 1~6 月龄的 *PU.1^{f/f}* 和 *aP2-cre-PU.1^{f/f}* 小鼠体重和活体成分进行了分析。研究发现, *aP2-cre-PU.1^{f/f}* 小鼠在出生后第 5 和第 6 月龄体重显著高于 *PU.1^{f/f}* 小鼠 ($P < 0.05$); 6 月龄时, 肌肉量无显著差异, 但 *aP2-cre-PU.1^{f/f}* 小鼠脂肪量明显高于 *PU.1^{f/f}* 小鼠 ($P < 0.05$)。结果显示, *aP2-cre-PU.1^{f/f}* 小鼠脂肪重量的增加是其体重增加的主要原因。脂肪组织特异性 *PU.1* 敲除小鼠的生产为深入研究 *PU.1* 基因在体调控脂肪生成的功能奠定了基础, 也为探索 *PU.1* 基因控制家畜体脂肪沉积提供了理论依据。

关键词: *PU.1*; 脂肪组织特异性敲除小鼠; 脂肪; 肌肉; 活体成分分析

中图分类号: Q343.15

文献标志码: A

文章编号: 0366-6964(2014)02-0225-08

Identification of Adipose-specific *PU.1* Knockout Mice and Analysis of Their Live Body Fat and Lean Contents

PANG Wei-jun^{1,2*}, WEI Ning¹, WANG Yu¹, XIONG Yan¹, TONG Qiang², YANG Gong-she¹

(1. Laboratory of Animal Fat Deposition and Muscle Development, Northwest A & F University, Yangling 712100, China; 2. Baylor College of Medicine, Houston 77030, USA)

Abstract: *aP2-cre-PU.1^{f/f}* mice were generated and identified using gene engineering, homologous recombination, PCR and Western blotting technologies in this study. The results showed that, compared with *PU.1^{f/f}* mice, *PU.1* protein was down-regulated to the level of that of *aP2-cre-PU.1^{f/f}*. The body weight and body composition were analyzed in *PU.1^{f/f}* and *aP2-cre-PU.1^{f/f}* mice with 1-6 month old. Moreover, the body weight of *aP2-cre-PU.1^{f/f}* mice was significantly higher than that of *PU.1^{f/f}* mice at month 5 and month 6 ($P < 0.05$). There was no significant difference in muscle weight but fat weight was significantly higher in *aP2-cre-PU.1^{f/f}* mice than that in *PU.1^{f/f}* mice ($P < 0.05$). The results suggest that increase of adipose tissue of *aP2-cre-PU.1^{f/f}* mice results in the increase of their body weight. Therefore, *aP2-cre-PU.1^{f/f}* mice is the better animal model to explore *PU.1* physiological functions in adipose tissue, which provide the theoretical basis for exploring the effect of *PU.1* gene on fat deposition in animals.

Key words: *PU.1*; adipose-specific knockout mouse; adipose; muscle; analysis of body composition

收稿日期: 2013-06-28

基金项目: 国家“973”计划子项目(2012CB124705); 国家自然科学基金(30600437); 西北农林科技大学基本科研业务项目(QN2009021); 国家生猪产业技术体系(CARS-36)

作者简介: 庞卫军(1972-), 男, 陕西汉中, 副教授, 博士, 主要从事动物遗传育种研究

* 通信作者: 庞卫军, E-mail: pwj1226@nwsuaf.edu.cn

肥胖症已成为发达和发展中国家普遍影响人类健康的疾病,据统计,全世界 2000 年体重超重或肥胖的成年人达 10 亿,是过去 30 年的 2 倍^[1],目前则超过成年人总人口的 30%^[2]。最近研究表明,通过调控巨噬细胞增殖、分化和凋亡可影响脂肪生成^[3-5],因此,一些影响巨噬细胞生理功能的基因或药物不仅有可能成为治疗肥胖症的新靶点,而且对于调控肉用家畜脂肪沉积的研究提供了新思路。

PU.1 (Spleen focus forming virus (SFFV) proviral integration oncogene, spi-1 或 PU.1) 转录因子是保守的 DNA 结合蛋白 Ets (E26 transformation-specific) 家族成员,因其 DNA 结合区识别共有序列 GAGGAA,故该区又称 Ets 结合区或 PU.1 box。PU.1 主要在造血系统如髓细胞和 B 淋巴细胞中表达,调节关键髓系基因的转录从而调控造血系统的分化^[6-8],其作用类似 PPAR γ (Peroxisome proliferator-activated receptor γ) 和 C/EBP α (CCAT enhancer binding protein α) 基因在前体脂肪细胞分化过程中的关键调控功能。基于此,推测调控巨噬细胞生物学功能的关键基因(如 PU.1)可能影响哺乳动物脂肪生成。

近年来,实验室前期研究发现,PU.1 在白色脂肪细胞中表达,并且过表达 PU.1 明显抑制前体脂肪细胞分化^[9],但干扰 PU.1 则下调 PU.1 表达从而促进前体脂肪细胞分化^[10-11]。结果提示,PU.1 可能对脂肪组织生长发育发挥重要的调控作用,是调控巨噬细胞和脂肪细胞分化的桥梁。但是,迄今为止 PU.1 对在体脂肪生长发育的影响仍不清楚。

动物体脂生成机制的研究对改善畜牧业肉用家畜肉质以及治疗人类肥胖症有重要意义。PU.1 周身敲除后,由于胎儿肝脏中缺乏 B-淋巴细胞和髓系细胞,导致小鼠胚胎早期死亡^[12]。为此,运用基因工程和同源重组等技术,产生了脂肪组织特异性 PU.1 敲除小鼠 (*aP2-cre-PU.1^{f/f}*),进行了基因型判定和验证,并对其体增重和活体组成进行了分析。研究发现,*aP2-cre-PU.1^{f/f}* 小鼠生长发育正常,其体增重高于 *PU.1^{f/f}* 小鼠,这可能与其脂肪组织增重快相关。本研究为进一步探索 PU.1 转录因子调控肉用家畜体脂生成及生理功能提供了理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验动物 *PU.1-Loxp (PU.1^f)* 小鼠和

aP2-cre 小鼠由贝勒医学院儿童营养研究中心的副教授 Qiang Tong 博士提供。

1.1.2 主要试剂与试验仪器 蛋白酶 K, PCR 反应液 (Toyobo), PU.1 antibody、PPAR γ antibody 和 Tublin antibody (Santa Cruz) 等; Bio-Rad PCR 仪、Molecular Imager ChemiDoc™ XRS+凝胶成像系统 (Bio-Rad) 和活体成分分析仪 EchoMRI-900 (Echo Medical Systems, Houston, TX) 等。

1.2 方法

1.2.1 *PU.1^f* 小鼠基因型判定 繁殖的小鼠 21 日龄断奶,分窝时剪小鼠尾尖 2~3 mm。加蛋白酶 K 于 65 °C 消化过夜,提取基因组 DNA。以 DNA 为模板进行 PCR,根据琼脂糖凝胶电泳结果判定小鼠基因型。PCR 引物,PU-A: 5'-TGTGGCCCTGGGAGTGCTTTGAA-3', PU-B: 5'-CACCCGCTTGCCTCCCACCAG-3'。15 μ L 反应体系,PCR 反应液 6.25 μ L,模板 0.5 μ L,引物各 0.5 μ L, dH₂O 7.25 μ L。循环条件:94 °C 5 min, (94 °C 15 s, 70 °C 60 s) \times 30 个循环,72 °C 10 min。仅有 631 bp 片段的为 WT (野生型),获得 758 bp 片段的为 *PU.1^{f/f}* (纯合型, *Ho*),含 2 条带的为 *PU.1^{f/+}* (杂合型, *He*)。

1.2.2 脂肪组织特异性 PU.1 敲除小鼠的产生与基因型判定 *PU.1^f* 小鼠和 *aP2-cre* 小鼠交配,产生杂合子后代 (*F*₁), *F*₁ 代公母鼠再杂交产生后代 (*F*₂)。用 2 次 PCR 结果判定 *F*₂ 代基因型。第 1 次判定 *F*₂ 代小鼠 *PU.1^f* 基因型,方法同上。第 2 次判定是否含 *aP2-cre* 结构。验证 *aP2-cre* 转基因小鼠 PCR 引物, F: 5'-ATGTCCAATTTACTGACCG-3', R: 5'-CGCCGCATAACCAGTGAAAC-3', 反应体系同上,循环条件:94 °C 2 min, (93 °C 40 s, 63 °C 30 s, 72 °C 45 s) \times 35 个循环,72 °C 10 min。含 100 bp 条带的为 *aP2-cre* 型小鼠。结合 2 次基因型判定结果,确定 *F*₂ 代小鼠基因型。

1.2.3 脂肪组织特异性 PU.1 敲除小鼠的验证

提取 *F*₂ 代小鼠脂肪组织和肝脏基因组 DNA, PCR 验证 *PU.1* 第 5 外显子是否剪切。PCR 引物, PU-A: 5'-TGTGGCCCTGGGAGTGCTTTGAA-3', PU-C: 5'-CCAGCAGCCATGTTTCAGAGGTGT-3', 方法同上。含 818 bp 条带的为 *aP2-cre-PU.1^{f/f}* 或 *aP2-cre-PU.1^{f/-}* 小鼠。另外,采集 *aP2-cre-PU.1^{f/f}*、*aP2-cre-PU.1^{f/-}*、*PU.1^{f/f}* 及野生型小鼠腹腔脂肪组织,提取总蛋白^[9], Western blotting

方法^[13]检测 *PU.1*(1 : 500)的表达,验证敲除效果。其中,PPAR γ (1 : 1 000)为脂肪组织标志基因,Tu-bulin(1 : 5 000)为内参基因。

1.2.4 脂肪组织特异性 *PU.1* 敲除小鼠体重变化

选择 *aP2-cre-PU.1^{f/f}* 和 *PU.1^{f/f}* 小鼠各 4 只,正常日粮(配方由贝勒医学院动物房提供)饲喂。分别在第 1、2、3、4、5 和 6 月龄称量小鼠体重,并详细记录。

1.2.5 活体成分分析 选择 6 月龄 *aP2-cre-PU.1^{f/f}* 和 *PU.1^{f/f}* 小鼠各 4 只,根据 EchoMRI-900 说明书操作步骤,活体测定其脂肪和肌肉组织的含量,并详细记录。EchoMRI 的测量原理:根据液体和组织中 H 原子核磁共振的特性不同,H 原子的密度也不同,利用这种不同即可来测量脂肪量和肌肉量,这种方法适用于人体及各种动物。

1.2.6 统计分析 采用 SPSS 16.0 统计软件 One-way ANOVA 进行方差分析与显著性检验。试验数据以“means \pm SD”表示。 $P < 0.05$ 时差异显著。

2 结 果

2.1 脂肪组织特异性 *PU.1* 敲除小鼠的产生与基因型判定

脂肪组织特异性 *PU.1* 敲除小鼠产生的策略如

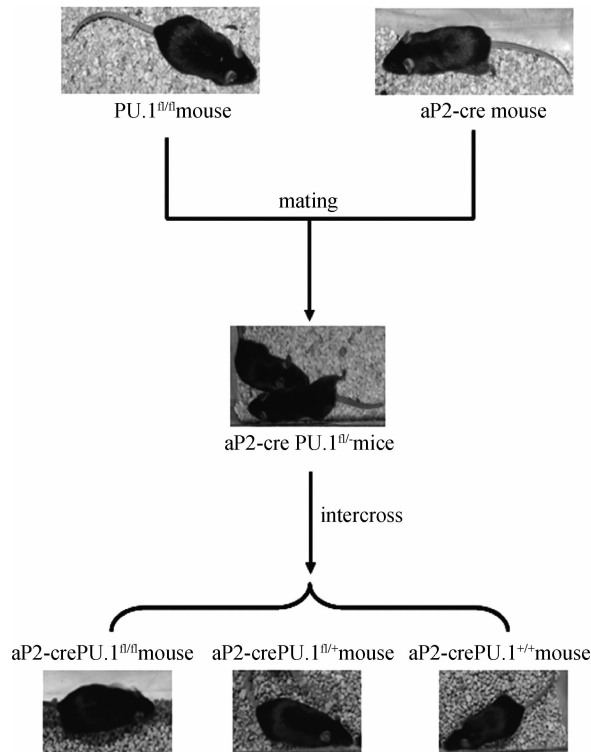


图 1 生产脂肪组织特异性 *PU.1* 敲除小鼠的策略

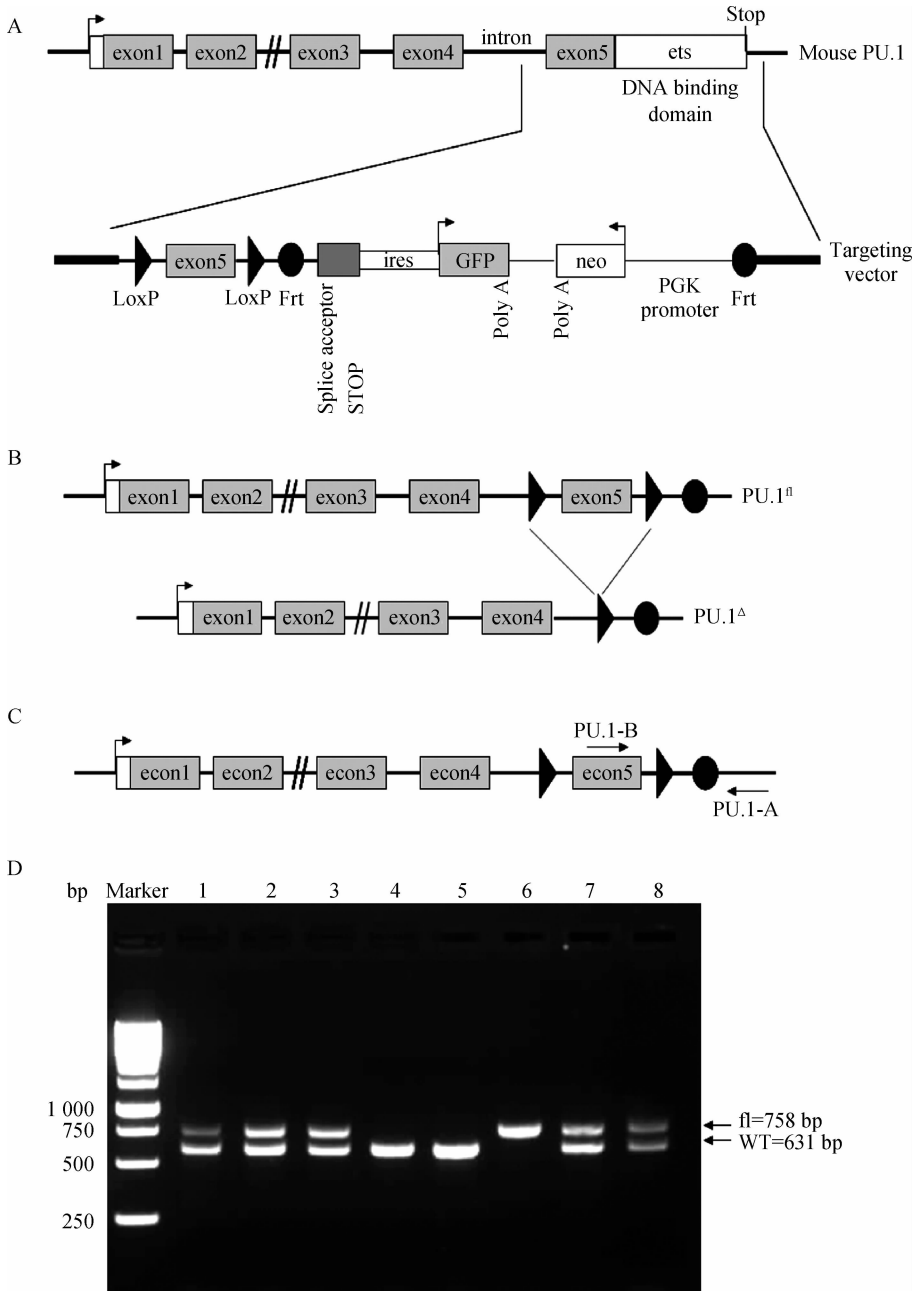
Fig. 1 Strategy for generation of adipose-specific *PU.1* knockout mice

图 1 所示。小鼠 *PU.1* 基因共有 5 个外显子^[14],以条件性删除第 5 外显子的方法产生敲除小鼠。即通过第 5 外显子两端插入 *Loxp* 序列(图 2A, 2B),再以 *aP2* 启动子启动 *cre* 表达,利用 *cre* 酶特异剪切 DNA 上 2 个 *Loxp* 间的序列而达到靶基因特异删除的目的。*PU.1^{f/f}* 小鼠基因型判定方法的 PCR 引物位置见图 2C,PCR 结果见图 2D,其中 1、2、3、7 和 8 号小鼠基因型为 *PU.1^{f/+}*,4、5 号为 *WT*,6 号为 *PU.1^{f/f}*。

脂肪组织特异性 *PU.1* 敲除小鼠基因型判定结果见图 3。结合图 3A 和 3B 的判定结果,4 和 9 号小鼠基因型为 *aP2-cre-PU.1^{f/f}*,2、5、8、13 号为 *aP2-cre-PU.1^{f/+}*,1 和 7 号为 *WT*,3、11 和 12 号为 *aP2-WT*,6 号为 *PU.1^{f/+}*。

2.2 脂肪组织特异性 *PU.1* 敲除小鼠的验证

PCR 目的在于验证 *PU.1* 基因第 5 外显子是否特异删除。PCR 引物位置见图 4A。如果 PCR 结果含 818 bp 片段,证明敲除成功。如图 4B 所示,脂肪组织与肝脏组织相比,基因型 *aP2-cre-PU.1^{f/f}* 和 *aP2-cre-PU.1^{f/+}* 小鼠 PCR 拷贝数明显较高。提取 *aP2-cre-PU.1^{f/f}*、*aP2-cre-PU.1^{f/+}* 和 *aP2-cre-PU.1^{+/+}* 小鼠脂肪组织的蛋白,Western blotting 结果表明,*aP2-cre-PU.1^{f/f}* 小鼠 *PU.1* 蛋



A. 小鼠 *PU.1* 基因结构与靶载体。2 个 *Loxp* 序列插入在小鼠 *PU.1* 基因第 5 外显子两端; B. *PU.1^{fl}* 和 *PU.1^Δ* 的线性模式图; C. 鉴定 *PU.1^{fl}* 小鼠的 PCR 引物位置; D. *PU.1^{fl}* 小鼠的基因型鉴定。仅具有 758 bp 的为 *PU.1^{fl/fl}* 小鼠; 仅具有 631 bp 的为 *PU.1^{+/+}* 小鼠 (WT); 具有 2 条带的为 *PU.1^{fl/+}* 小鼠

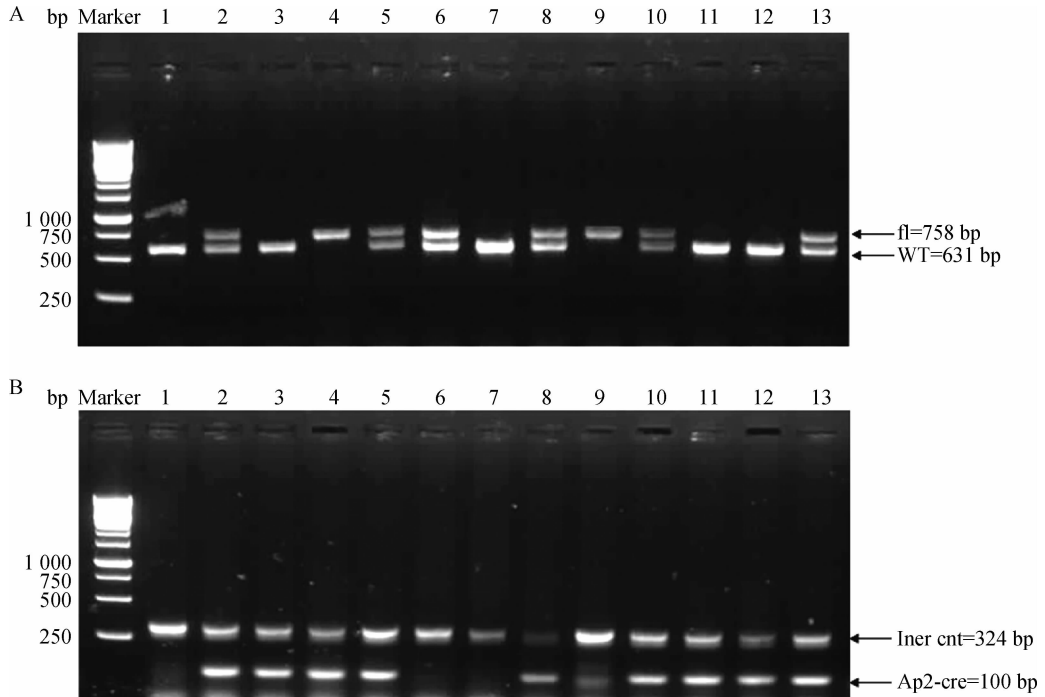
A. Construction of mouse *PU.1* gene and targeting vector. Two *Loxp* sequences are inserted into sides of the 5 exon; B. Diagram for *PU.1^{fl}* and *PU.1^Δ*; C. Primer position for genotyping of *PU.1^{fl}* mice; D. Genotyping of *PU.1^{fl}* mice. The individuals with the band of 758 bp are *PU.1^{fl/fl}* mice; the individuals with the band of 631 bp are WT mice and the individuals with both bands of 758 and 631 bp are *PU.1^{fl/+}* mice

图 2 *PU.1^{fl}* 小鼠的生产及其基因型鉴定

Fig. 2 Generation and genotyping of *PU.1^{fl}* mice

白表达显著下降, 达到敲除水平, *aP2-cre-PU.1^{fl/-}* 小鼠 *PU.1* 蛋白表达也有所降低, 但 *aP2-cre-PU.1^{+/+}* 小鼠 *PU.1* 蛋白表达则不受影响 (图 4C)。此外, 在脂肪组织特异性 *PU.1* 敲除小鼠脂肪组织

中, 与脂肪细胞分化和脂肪形成相关的标志基因 *PPAR γ* 的表达则被上调 (图 4C), 这与 3T3-L1 脂肪细胞中 *PU.1* 干扰后 *PPAR γ* 被上调^[10] 的研究结果一致。



A. *PU.1*^{fl} 小鼠的基因型鉴定。其中 1、3、7、11 和 12 为 WT; 2、5、6、8、10 和 13 为 *PU.1*^{fl/+} 小鼠; 4 和 9 为 *PU.1*^{fl/fl} 小鼠; B. *aP2-cre* 小鼠的基因型鉴定。具有 100 bp 条带的为 *aP2-cre* 小鼠; 324 bp 的条带为内部控制条带 (Iner cnt)。其中个体 2~5 和 8~13 为 *aP2-cre* 小鼠

A. Genotyping of *PU.1*^{fl} mice. 1, 3, 7, 11 and 12 are WT; 2, 5, 6, 8, 10 and 13 are *PU.1*^{fl/+} mice; 4 and 9 are *PU.1*^{fl/fl} mice; B. Genotyping of *aP2-cre* mice. The individuals with the band of 100 bp are *aP2-cre* mice and 324 bp band is iner control. 2-5 and 8-13 are *aP2-cre* mice

图 3 脂肪组织特异性 *PU.1* 敲除小鼠的基因型鉴定

Fig. 3 Genotyping of adipose-specific *PU.1* knockout mice

2.3 脂肪组织特异性 *PU.1* 敲除小鼠体重变化及活体成分分析

选 *aP2-cre-PU.1*^{fl/fl} 和 *PU.1*^{fl/fl} 小鼠各 4 只, 正常日粮饲喂, 分别在第 1、2、3、4、5 和 6 月龄称量体重。结果发现, 在第 5 和第 6 月龄, *aP2-cre-PU.1*^{fl/fl} 小鼠体重明显高于 *PU.1*^{fl/fl} 小鼠 ($P < 0.05$) (图 5A)。

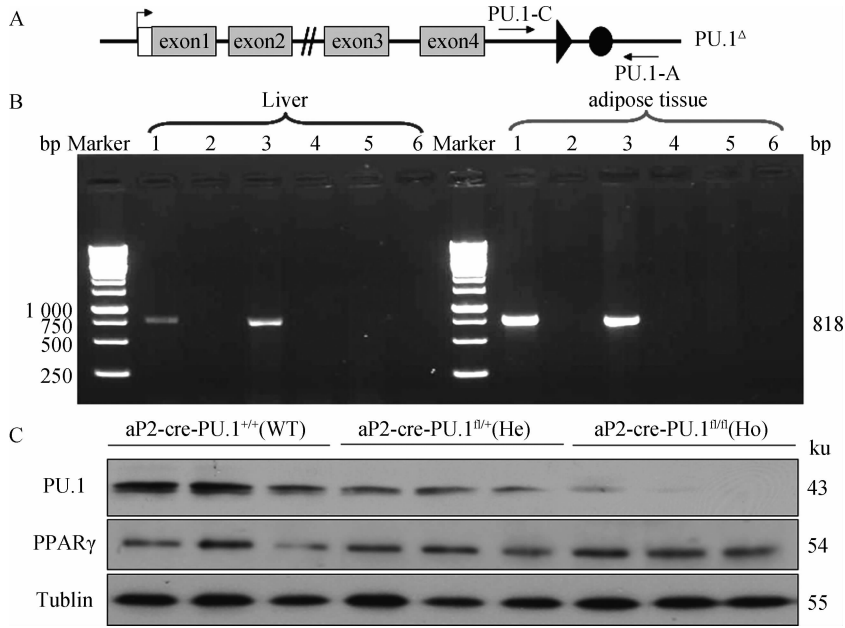
选取正常日粮饲喂的 6 月龄 *aP2-cre-PU.1*^{fl/fl} 和 *PU.1*^{fl/fl} 小鼠各 4 只, 运用 Echo MRI 900 组合系统进行活体成分分析。结果表明, *aP2-cre-PU.1*^{fl/fl} 小鼠脂肪量显著高于 *PU.1*^{fl/fl} 小鼠 ($P < 0.05$), 而肌肉量二者无显著差异 ($P > 0.05$) (图 5B)。提示 *PU.1* 转录因子可能调控小鼠脂肪生成。

3 讨论

由于 *PU.1* 基因周身敲除导致小鼠早期死亡^[12], 因此, 研究 *PU.1* 基因对在体脂肪生成的作用时, 必须考虑建立组织特异性敲除小鼠模型。对于普通的转基因, 表达区域取决于启动子。如果选

择全身表达的启动子, 如 CAG 启动子, 将得到全身表达的转基因小鼠; 如果选择一些组织特异性表达的基因的启动子, 将得到组织特异性表达的转基因小鼠, 如用肌酸激酶 (MCK) 基因的启动子为肌肉特异性和外周血白蛋白 (Alb) 基因的启动子为肝脏特异性。本研究在 *aP2* (Adipocyte fatty acid-binding protein) 基因启动子的调控下进行表达, 因此可获得脂肪组织特异表达的敲除小鼠。

本研究的条件性敲除策略是在需要敲除的片段两侧各插入 1 个 *Loxp* 位点, 为便于筛选, 在其中 1 个 *Loxp* 位点旁边同时带上 GFP 和 Neo (Neomycin) 标记, 该标记两侧带有 FRT 位点 (图 2A)。这样的小鼠称为 fl 小鼠, 将 fl 小鼠与 Flpe (识别 FRT 位点的重组酶) 品系交配可以删除 Neo 标记, 得到不带 Neo 标记的 fl 小鼠。fl 小鼠与 Cre 表达品系交配可以删除 2 个 *Loxp* 位点之间的部分, 即敲除的片段。Cre 品系是各种组织、细胞特异表达 Cre 重组酶的转基因或基因敲入小鼠, 将 fl 小鼠与它们交配就实现了组织或细胞特异性敲除。本试验中,

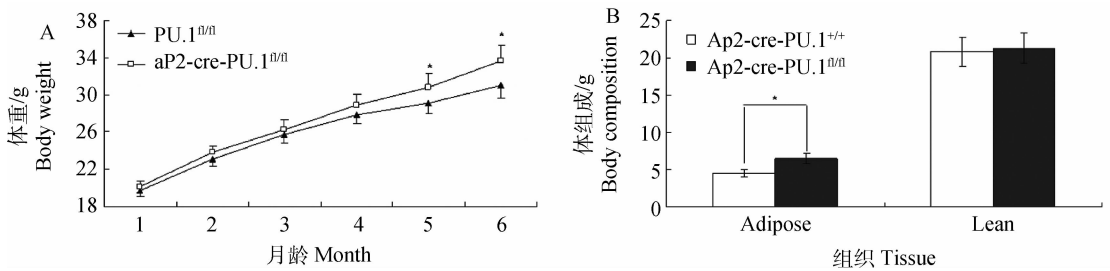


A. 鉴定 $aP2\text{-cre-PU.1}^{fl}$ 小鼠的 PCR 引物位置。B. 在肝脏和脂肪组织中 PCR 验证 $aP2\text{-cre-PU.1}^{fl}$ 小鼠。其中, 具有 818 bp 的条带表示 $PU.1$ 第 5 外显子被删除。1 为 $aP2\text{-cre-PU.1}^{fl/fl}$, 3 为 $aP2\text{-cre-PU.1}^{fl/+}$, 2, 4 为 $PU.1^{fl/fl}$, 5, 6 为 $aP2\text{-cre-PU.1}^{+/+}$ 。C. $aP2\text{-cre-PU.1}^{+/+}$ (WT)、 $aP2\text{-cre-PU.1}^{fl/+}$ (He) 和 $aP2\text{-cre-PU.1}^{fl/fl}$ (Ho) 小鼠脂肪组织 $PU.1$ 蛋白的表达

A. Primer position for genotyping of $aP2\text{-cre-PU.1}^{fl}$ mice. B. Identification of adipose-specific $PU.1$ knockout mice in liver and adipose tissue. The exon 5 was deleted in the band of 818 bp. 1, $aP2\text{-cre-PU.1}^{fl/fl}$; 3, $aP2\text{-cre-PU.1}^{fl/+}$; 2, 4, $PU.1^{fl/fl}$; 5, 6, $aP2\text{-cre-PU.1}^{+/+}$. C. The levels of $PU.1$ protein in $aP2\text{-cre-PU.1}^{+/+}$ (WT), $aP2\text{-cre-PU.1}^{fl/+}$ (He) and $aP2\text{-cre-PU.1}^{fl/fl}$ (Ho) mice

图 4 脂肪组织特异性 $PU.1$ 敲除小鼠的验证

Fig. 4 Identification of adipose-specific $PU.1$ knockout mice



A. 小鼠 1~6 月龄体重分析。数据以“means \pm SD”表示, $n=4$, $*$. $P<0.05$; B. 6 月龄小鼠活体成分分析, 数据以“means \pm SD”表示, $n=4$, $*$. $P<0.05$

A. Body weights of mice from 1 to 6 month old. Data represents as “means \pm SD”, $n=4$, $*$. $P<0.05$; B. Live body composition analysis of 6 month old mice. Data represents as “means \pm SD”, $n=4$, $*$. $P<0.05$

图 5 脂肪组织特异性 $PU.1$ 敲除小鼠体重和体成分分析

Fig. 5 Body weight and live body composition analysis of adipose-specific $PU.1$ knockout mice

条件性敲除 $PU.1$ 基因第 5 外显子, 发现小鼠生长发育基本正常, 未出现胚胎及出生后早期死亡现象。此外, $PU.1$ 敲除小鼠脂肪组织中 $PU.1$ 蛋白水平的检测也证实 $PU.1$ 敲除是成功的。因此, 本研究构建的脂肪组织特异性 $PU.1$ 敲除小鼠模型可进行后续研究。

目前, 生产功能基因脂肪组织特异性敲除小鼠,

大多采用 $aP2$ 基因启动子。但是, $aP2$ 基因不仅在脂肪组织中表达, 也在肝脏和肌肉组织以及巨噬细胞中表达^[15-17], 因此用 $aP2$ 基因启动子构建的脂肪组织特异性敲除小鼠还有不足之处。本研究中, $PU.1$ 基因条件性敲除后, 发现了 $aP2\text{-cre-PU.1}^{fl/fl}$ 和 $aP2\text{-cre-PU.1}^{fl/+}$ $PU.1$ 小鼠肝脏中 PCR 检测不应有的 818 bp 的条带, 证实了上述观点。与 $aP2$ 基因

组织表达相比, 目前发现 *perilipin1*、*perilipin4* 或 *adiponectin* 基因在脂肪组织中表达的特异性更好^[18-19], 因此, 今后的研究如换用 *perilipin* 或 *adiponectin* 基因启动子构建脂肪组织特异敲除小鼠可能效果更佳。

生产脂肪组织特异性 *PU.1* 基因敲除小鼠的目的是明确该基因对活体动物脂肪生成的影响。但是, 很多与肥胖相关的疾病通常与体脂肪而非体重的增加相关, 而测量体重的方法不能得到脂肪含量的信息。传统的测定身体脂肪和肌肉含量的方法(如全身化学成分分析法(CCA)), 不仅需要屠宰动物, 且非常耗时。利用定量核磁共振法(QMR)对身体成分进行测定的方法则优于 CCA, 因为 QMR 可以对活体动物进行快速的身体成分(包括脂肪量和肌肉量)检测, 且这种方法对动物没有 X 射线辐射损伤。可以预测, 该方法在畜牧领域肉用家畜肉质研究方面应用前景十分乐观。Echo MRI-900 组合系统可以对小鼠进行快速精准且完全无损伤的身体成分测定, 其测量结果可与化学分析法(CCA)相比, 并且测量速度远远快于化学分析法^[20]。本试验运用 Echo MRI-900 组合系统检测, 结果发现, *PU.1* 脂肪组织特异性敲除小鼠体重增重原因是由于脂肪量增加, 而非肌肉量的增加。因此, *PU.1* 基因对小鼠脂肪生成发挥重要调控作用。饲养肉用家畜目的在于为消费者提供优质的肉品。近年来, 对于养猪业而言, 猪肉产量明显增加, 然而肉质却变差, 其主要是由于瘦肉率上升导致肌内脂肪含量降低所致。因此, 如何能够在保持或者增加猪肉产量的同时提高肉品质已成为 21 世纪畜牧界的热点和难点问题。本研究中, 与正常小鼠相比, *PU.1* 敲除后可通过增加脂肪量而增加小鼠体重, 但是否增加肌内脂肪含量还需进一步探索。本研究结果提示, *PU.1* 基因可能是调控肉用家畜体脂生成的关键基因, 是控制体脂沉积改善肉质的新靶点。

参考文献:

- [1] World Health Organization. Global strategy on diet, physical activity and health: report of WHO Scientific Group [R]. Geneva: WHO, 2000.
- [2] HENRY S L, BENSLEY J G, WOOD-BRADLEY R J, et al. White adipocytes: more than just fat depots [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2012, 44(3): 435-440.
- [3] MOLGAT A S, GAGNON A, SORISKY A. Macrophage-induced preadipocyte survival depends on sig-

naling through Akt, ERK1/2, and reactive oxygen species [J]. *Exp Cell Res*, 2011, 317(4): 521-530.

- [4] MOLGAT A S, GAGNON A, FOSTER C, et al. The activation state of macrophages alters their ability to suppress preadipocyte apoptosis [J]. *J Endocrinol*, 2012, 214(1): 21-29.
- [5] WANG J, SHI G P. Mast cell stabilization: novel medication for obesity and diabetes [J]. *Diabetes Metab Res Rev*, 2011, 27(8): 919-924.
- [6] WEI F, ZAPRAZNA K, WANG J, et al. *PU.1* can recruit BCL6 to DNA to repress gene expression in germinal center B cells [J]. *Mol Cell Biol*, 2009, 29(17): 4612-4622.
- [7] TAKEMOTO C M, BRANDAL S, JEGGA A G. *PU.1* positively regulates GATA-1 expression in mast cells [J]. *J Immunol*, 2010, 184(8): 4349-4361.
- [8] CHOE K S, UJHELLY O, WONTAKAL S N, et al. *PU.1* directly regulates cdk6 gene expression, linking the cell proliferation and differentiation programs in erythroid cells [J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(5): 3044-3052.
- [9] WANG F, TONG Q. Transcription factor *PU.1* is expressed in white adipose and inhibits adipocyte differentiation [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2008, 295(1): C213-C220.
- [10] LIN L G, PANG W J, CHEN K Y, et al. Adipocyte expression of *PU.1* transcription factor causes insulin resistance through upregulation of inflammatory cytokine gene expression and ROS production [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2012, 302(12): E1550-E1559.
- [11] PANG W J, LIN L G, XIONG Y, et al. Knockdown of *PU.1* as lncRNA inhibits adipogenesis through enhancing *PU.1* mRNA translation [J]. *J Cell Biochem*, 2013, 114(11): 2500-2512.
- [12] STEIDL U, ROSENBAUER F, VERHAAK R G, et al. Essential role of Jun family transcription factors in *PU.1* knockdown-induced leukemic stem cells [J]. *Nat Genet*, 2006, 38(11): 1269-1277.
- [13] 王平, 熊燕, 杨公社, 等. 慢病毒载体介导的 RNA 干扰敲减 Akt2 表达抑制猪前体脂肪细胞分化 [J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2012, 28(1): 53-65.
- [14] 庞卫军, 卫宁, 熊燕, 等. *PU.1* 转录因子调控前体脂肪细胞生脂的分子机制研究进展 [J]. *中国细胞生物学学报*, 2011, 33(12): 1394-1400.
- [15] TU Y J, SU Y J, WANG K H, et al. Gene expression of heart and adipocyte fatty acid-binding protein in

- chickens by FQ-RT-PCR [J]. *Asian-Austr J Anim Sci*, 2010, 23(8): 987-992.
- [16] SAEZ G, DAVAIL S, GENTES G, et al. Gene expression and protein content in relation to intramuscular fat content in Muscovy and Pekin ducks [J]. *Poult Sci*, 2009, 88(11): 2382-2391.
- [17] MAKOWSKI L, BOORD J B, MAEDA K, et al. Lack of macrophage fatty-acid-binding protein aP2 protects mice deficient in apolipoprotein E against atherosclerosis [J]. *Nat Med*, 2001, 7(6): 699-705.
- [18] LU X, GRUIA-GRAY J, COPELAND N G, et al. The murine perilipin gene; the lipid droplet-associated perilipins derive from tissue-specific, mRNA splice variants and define a gene family of ancient origin [J]. *Mamm Genome*, 2001, 12(9): 741-749.
- [29] RONTI T, LUPATTELLI G, MANNARINO E. The endocrine function of adipose tissue: an update [J]. *Clin Endocrinol*, 2006, 64(4): 355-365.
- [20] NIXON J P, ZHANG M, WANG C, et al. Evaluation of a quantitative magnetic resonance imaging system for whole body composition analysis in rodents [J]. *Obesity*, 2010, 18(8): 1652-1659.

(编辑 郭云雁)