

# 鸡 *KLF3* 基因的表达规律及其对脂肪细胞分化的影响研究

王海霞<sup>1</sup>, 张志威<sup>1,2</sup>, 贺 蓁<sup>1</sup>, 王 宁<sup>1</sup>, 王宇祥<sup>1</sup>, 曹志平<sup>1</sup>, 李 辉<sup>1\*</sup>

(1. 东北农业大学动物科学技术学院, 农业部鸡遗传育种重点实验室, 黑龙江省普通高等学校动物遗传育种与繁殖重点实验室, 哈尔滨 150030; 2. 石河子大学医学院, 石河子 832000)

**摘要:** 为研究鸡 *KLF3* (*Gallus gallus* Krüppel-like factor 3, *gKLF3*) 基因的表达规律及其对脂肪细胞分化的影响, 利用 qRT-PCR 检测了其在肉鸡脂肪组织和脂肪细胞中的表达特点, 并利用基因过表达技术研究 *gKLF3* 基因对脂肪细胞分化的影响。结果显示, *gKLF3* 在 2~10 周龄肉鸡腹部脂肪组织中持续表达, 10 周龄高脂肉鸡腹部脂肪组织 *gKLF3* 表达量显著高于低脂肉鸡 ( $P < 0.05$ ); *gKLF3* 在鸡成熟脂肪细胞的表达量低于前脂肪细胞 ( $P < 0.01$ ); 体外培养的鸡前脂肪细胞经油酸诱导分化后, *gKLF3* 基因表达量均有低于对照组的趋势; 过表达 *gKLF3* 基因有抑制脂肪细胞分化, 以及抑制 *C/EBP $\alpha$* 、*FAS* 基因表达 ( $P < 0.01$ ) 的趋势。研究结果表明, *gKLF3* 基因在鸡腹部脂肪组织生长发育过程中发挥重要作用, 其可能是通过抑制 *C/EBP $\alpha$* 、*FAS* 基因表达进而抑制脂肪细胞分化实现的。

**关键词:** 鸡; *KLF3* 基因; 脂肪细胞分化; 基因表达

中图分类号: S831.2

文献标志码: A

文章编号: 0366-6964(2015)01-0026-06

## Expression Pattern of Chicken Krüppel-like Factor 3 Gene and Its Effect on Adipocyte Differentiation

WANG Hai-xia<sup>1</sup>, ZHANG Zhi-wei<sup>1,2</sup>, HE Qi<sup>1</sup>, WANG Ning<sup>1</sup>,

WANG Yu-xiang<sup>1</sup>, CAO Zhi-ping<sup>1</sup>, LI Hui<sup>1\*</sup>

(1. Key Laboratory of Chicken Genetics and Breeding of Ministry of Agriculture, Key Laboratory of Animal Genetics, Breeding and Reproduction at Education Department of Heilongjiang Province, College of Animal Science and Technology, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China; 2. School of Medicine, Shihezi University, Shihezi 832000, China)

**Abstract:** This experiment was conducted to study the expression pattern of Krüppel-like factor 3 (*Gallus gallus* *KLF3*, *gKLF3*) gene, and its effect on adipocyte differentiation. The expression pattern of *gKLF3* in the adipose tissue and adipocytes of broilers were analyzed by using qRT-PCR. The effect of *gKLF3* on adipocyte differentiation was analyzed by over-expression technology. The result showed that *gKLF3* was consecutively expressed during the chicken adipose tissue development from 2- to 10-week-old. At 10-week-old, the *gKLF3* expression in the abdominal fat tissues was significantly higher in fat line chicken than that in lean line chicken ( $P < 0.05$ ). Additionally, the significantly higher *gKLF3* expression level was observed in preadipocytes in contrast to that in mature adipocytes ( $P < 0.01$ ). The expression levels of *gKLF3* in preadipocytes induced by oleate were lower than that in control. Moreover, over-expression of *gKLF3* inhibited adipocyte differentiation and down-regula-

收稿日期: 2014-05-07

基金项目: 国家高技术研究发展计划(863 计划)(2013AA102501); 国家肉鸡产业技术体系建设项目(CARS-42); 黑龙江省高等学校科技创新团队建设项目(2010td02)

作者简介: 王海霞(1987-), 女, 山东烟台人, 硕士生, 主要从事家禽遗传育种研究, E-mail: haixiawang1025@126.com

\* 通信作者: 李 辉, 教授, E-mail: lihui@neau.edu.cn

ted expression of *FAS* and *C/EBP $\alpha$*  ( $P < 0.01$ ). The result indicate that *gKLF3* play an important role in the growth and development of chicken abdominal adipose tissue, and might restrain adipocyte differentiation by inhibiting the expression of *C/EBP $\alpha$*  and *FAS*.

**Key words:** chicken; *KLF3* gene; adipocyte differentiation; gene expression

Krüppel-like factor 3(KLF3)具有 3 个典型的  $C_2H_2$  锌指结构,是 Sp1/KLFs 蛋白家族的一个成员,早在 1996 年,从小鼠红细胞(Murine erythroid cells)中克隆得到<sup>[1]</sup>。因为在其 N 端具有较多的碱性氨基酸,所以 KLF3 又被称为碱性 KLF 因子(Basic Krüppel like factor, bKLF)<sup>[1]</sup>。目前, KLF3 已经被证实哺乳动物的红细胞生成<sup>[2]</sup>、免疫反应<sup>[3]</sup>、自噬作用<sup>[4]</sup>、心肌细胞分化<sup>[5]</sup>和脂肪细胞分化<sup>[6]</sup>中发挥重要作用。

*KLF3* 基因敲除小鼠(*KLF3*<sup>-/-</sup>)比正常小鼠拥有较少的白色脂肪组织,并且附睾脂垫中的脂肪细胞无论是数量,还是体积都小于正常小鼠<sup>[6-7]</sup>。细胞水平的研究证实 *KLF3* 在脂肪细胞分化中发挥作用。3T3-L1 前脂肪细胞系的研究表明, *KLF3* 基因的表达量随着脂肪细胞的分化而下降,强制表达 *KLF3* 基因抑制 3T3-L1 脂肪细胞的分化<sup>[6]</sup>,进一步的机制研究显示, *KLF3* 通过抑制 *C/EBP $\alpha$*  基因的表达抑制脂肪细胞分化。在秀丽隐杆线虫中的研究表明, *KLF3* 通过调控脂肪酸去饱和途径基因的表达水平,参与调控维持正常脂肪酸复合物的形成<sup>[8]</sup>;此外, *KLF3* 是调控脂蛋白组装、分泌和脂肪酸  $\beta$ -氧化的重要基因<sup>[9]</sup>。

目前还没有关于 *KLF3* 基因在鸟类中的研究报道。本研究以东北农业大学肉鸡高、低脂系为试验材料,利用 qRT-PCR 的方法检测 *gKLF3* 基因在 2~10 周龄高低脂系肉鸡腹部脂肪组织、12 日龄 Arbour Acres(AA)仔鸡成熟脂肪细胞和前脂肪细胞,以及脂肪细胞分化过程中的表达特点;同时,通过基因过表达试验研究了 *gKLF3* 基因对鸡前脂肪细胞分化的影响,为进一步研究 *gKLF3* 基因调控脂肪分化的机理奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

东北农业大学肉鸡高低脂选择系第 11 世代 2~10 周龄公鸡<sup>[10]</sup>。每个时间点,高脂系、低脂系各取 3 只作为试验材料,采集新鲜的腹脂样品于  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  保存备用。12 日龄的 AA 肉仔鸡由本课题组饲养。鸡 *KLF3* 基因过表达质粒(pCMV-myc-*gKLF3*)由本实验室保存。

### 1.2 方法

1.2.1 鸡前脂肪细胞和成熟脂肪细胞分离 取 12 日龄 AA 肉仔鸡公鸡,超净台中取腹部脂肪组织(腹部及肌胃周围脂肪组织)放入装有磷酸盐缓冲液(PBS)的平皿中;用 PBS 将脂肪组织洗 2 遍,尽量除去血管和筋膜,用眼科剪剪碎组织,大约剪到  $1\text{ mm}^3$  体积大小;用 0.1% I 型胶原酶的消化液消化组织,  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  消化 65 min(每 5 min 摇匀 1 次);消化完毕,加入全培养基终止消化,吸管吹打,静置分层,取上层油状物下的絮状物即为成熟脂肪细胞,其余部分分别经 100 和 600 目不锈钢筛网过滤,滤液分装入离心管中,  $2\ 000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$  离心 10 min;弃去上清,加入红细胞裂解液重悬细胞,室温静置 10 min 后,  $2\ 000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$  离心 10 min,弃上清,获得的沉淀即前脂肪细胞<sup>[11]</sup>。

1.2.2 鸡前脂肪细胞的培养和诱导分化 将分离的鸡前脂肪细胞沉淀加入适量的全培养基重悬、吹匀,置  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  培养箱中培养,每 2 d 换液 1 次,一般 4~5 d 长满,即可传代;当传代培养的鸡前脂肪细胞汇合至 80% 左右时,加入诱导培养基(含有  $160\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  油酸浓度的培养基)进行诱导分化,每 2 d 换 1 次诱导培养基继续培养。

1.2.3 总 RNA 提取及反转录 按照 TRIzol 试剂(Invitrogen)说明书提取鸡脂肪组织、成熟脂肪细胞和前脂肪细胞的总 RNA。

1.2.4 油红 O 提取比色 在鸡前脂肪细胞诱导分化后的 24、72、120 h,分别弃去培养基,用 PBS 洗 3 次,用 10% 甲醛固定 30 min;然后用 PBS 洗 3 次,蒸馏水洗 3 次,再用 0.5% 的油红 O 染色液染色 40 min;弃去多余的染色液,用 PBS 冲洗 3 次,室温干燥;加入 100% 异丙醇溶解细胞中的油红 O,15 min 后用分光光度计(510 nm)记录光吸收值。

1.2.5 半定量 PCR 根据 NCBI 数据库 *gKLF3* 基因预测序列 XM\_427367,利用 Primer premier 5.0 结合 UCSC 鸡基因组数据库跨内含子设计 *gKLF3* 基因表达分析引物,以 *gGAPDH* 基因为内参,半定量 PCR 用到的引物详见表 1。扩增片段大小 *gKLF3* 基因为 276 bp, *gGAPDH* 基因为 185 bp。循环次数分别为 28 和 25。以脂肪组织和脂肪细胞的 cDNA 为模板,扩增片段,琼脂糖凝胶电泳

获得电泳图片,利用 Quantity one Bio-rad 软件检测基因电泳条带的积分光密度 IOD(Integrated option density,IOD)值。基因的相对表达量:

$$\text{Rel. Quantity} = \frac{\text{IOD}(KLF3)}{\text{IOD}(GAPDH)}。$$

1.2.6 qRT-PCR 利用 TransStart™ Top Green qPCR SuperMix 试剂盒和 ABI Prism 7500 sequence detection system (Applied Biosystems, Foster City, CA) 进行 qRT-PCR 检测,反应采用 10  $\mu\text{L}$  体系,在冰上配置,体系包括:cDNA 1  $\mu\text{L}$ , 2 $\times$  Trans-Start™ Top Green qPCR SuperMix 5  $\mu\text{L}$ , PCR Forward (Reverse) Primer (10  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 各 0.2  $\mu\text{L}$ , Passive Reference Dye II (50 $\times$ ) 0.2  $\mu\text{L}$ , ddH<sub>2</sub>O 3.6  $\mu\text{L}$ ;反应条件为 94  $^{\circ}\text{C}$  预变性 30 s,而后进行 40 个循环(94  $^{\circ}\text{C}$  5 s, 60  $^{\circ}\text{C}$  34 s)。为了检测扩增效率和防止二聚体影响试验结果,PCR 完成后进行熔解曲线(Dissociation curves)检测,qRT-PCR 所用引物详见表 1。

表 1 用于 PCR 的引物

Table 1 Primers used for PCR

基因 Gene	引物(5'-3') Primer
<i>gKLF3</i>	F:CCAGCCAGTTCCTTTTCAT R:ACTTCCTGCGGAGACAAT
<i>C/EBP<math>\alpha</math></i>	F:AGCTCGACCCGCTGTAC R:TGTCTTTTGGATTTGC
<i>FAS</i>	F:AAGGAGGAAGTCAACGG R:TTGATGGTGAGGAGTCG
<i><math>\beta</math>actin</i>	F:TCTTGGGTATGGAGTCCTG R:TAGAAGCATTTCGGGTGG
<i>gGAPDH</i>	F:CTGTCAAGGCTGAGAACG R:GATAACACGCTTAGCACCA

1.2.7 Western blot 待细胞培养至预定时间,弃培养基,室温下用 PBS 清洗细胞。然后向 6 孔板中加入细胞裂解液(RIPA Buffer)(每孔 0.15 mL),放置于冰上,轻轻摇动,作用 15 min。裂解完成后,将含有细胞的裂解液移至 1.5 mL 离心管中。10 000  $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$  4  $^{\circ}\text{C}$  离心 10 min 后,将上清(细胞总裂解物)转至新的离心管,与等体积凝胶加样缓冲液(2 $\times$ )混合,在 100  $^{\circ}\text{C}$  加热 3~5 min 使蛋白质变性。每个样品取 10~20  $\mu\text{L}$ ,采用 BIO-RAD 的 Mini-PROTEAN3 电泳系统进行常规 SDS-PAGE 电泳。电泳结束后,采用 BIO-RAD 的 Mini Trans-Blot 将样品转移至 PVDF 膜,将膜置于封闭液(5% 脱脂乳的 PBST),室温反应 1 h,或 4  $^{\circ}\text{C}$  过夜。洗去膜上的封闭液,将膜孵育在含一抗(Anti-HA Tag

Mouse Monoclonal Antibody)的 PBST 溶液,置于摇床上,室温反应 1 h;洗膜后将膜孵育在含二抗(Goat Anti-Mouse IgG, HRP Conjugated)的 PBST 溶液;再次洗膜后常规 ECL 显色。

1.2.8 细胞转染 细胞转染按照罗氏 FuGENE HD 转染试剂操作说明书进行。

1.2.9 数据分析 数据分析采用 Student-*t*, 数据表示为“平均数 $\pm$ 标准差(Mean $\pm$ SD)”,以  $P < 0.05$  表示差异显著, $P < 0.01$  表示差异极显著。

## 2 结果

### 2.1 *gKLF3* 基因在高低脂系 11 世代 2~10 周龄肉鸡脂肪组织的表达分析

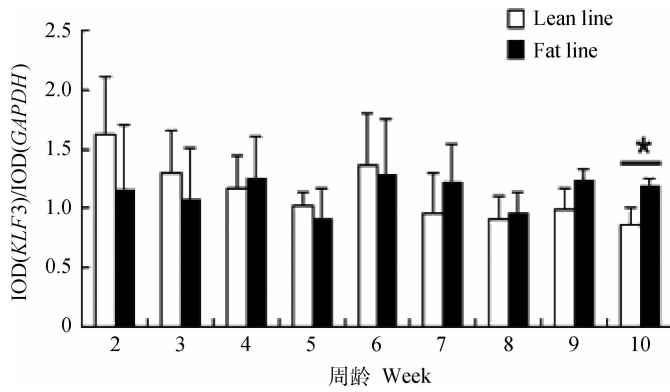
利用半定量 PCR 分析了 *gKLF3* 基因在东北农业大学肉鸡高、低脂系 11 世代 2~10 周龄肉鸡脂肪组织中的表达。结果显示,*gKLF3* 在 2~10 周龄肉鸡腹部脂肪组织的生长发育过程中持续表达,10 周龄时,高脂肉鸡腹部脂肪组织 *gKLF3* 表达水平显著高于低脂肉鸡( $P < 0.05$ ,图 1)。

### 2.2 鸡脂肪细胞中 *gKLF3* 基因的表达规律分析

利用 qRT-PCR 方法分析 AA 肉鸡前脂肪细胞和成熟脂肪细胞中 *gKLF3* 基因的表达水平,结果显示,*gKLF3* 基因在鸡前脂肪细胞(Stromal-vascular cell, SV)中的表达量高于成熟脂肪细胞(Fat cell, FC)( $P < 0.01$ ,图 2A)。此外,本研究发现,体外培养的鸡前脂肪细胞经油酸诱导分化后,*gKLF3* 基因的表达量在 4 个时间点(24、48、72 和 96 h)均有低于对照组(未经油酸诱导)的趋势,但没有达到显著水平(图 2B)。

### 2.3 过表达 *gKLF3* 对鸡前脂肪细胞分化的影响

为了进一步研究 *gKLF3* 基因在鸡前脂肪细胞分化过程中的作用,本研究利用过表达技术分析了 *gKLF3* 基因对鸡前脂肪细胞分化的影响。在鸡前脂肪细胞中转染质粒 pCMV-myc-*gKLF3* 和 pCMV-myc(Empty Vector, EV),48 h 后回收细胞,用 myc 标签抗体进行 Western blot,结果显示 pCMV-myc-*gKLF3* 质粒能在前脂肪细胞中成功表达蛋白(图 3A)。将鸡 *KLF3* 基因过表达质粒(pCMV-myc-*gKLF3*)转染到原代培养的鸡前脂肪细胞中,培养 24 h 后,加入油酸诱导细胞分化,油红 O 提取比色结果显示,在诱导后的 24、72 和 120 h,与转染空载体的对照组细胞相比,过表达 *gKLF3* 基因的鸡前脂肪细胞中脂滴沉积出现减少的趋势,但没有达到显著水平(图 3B)。

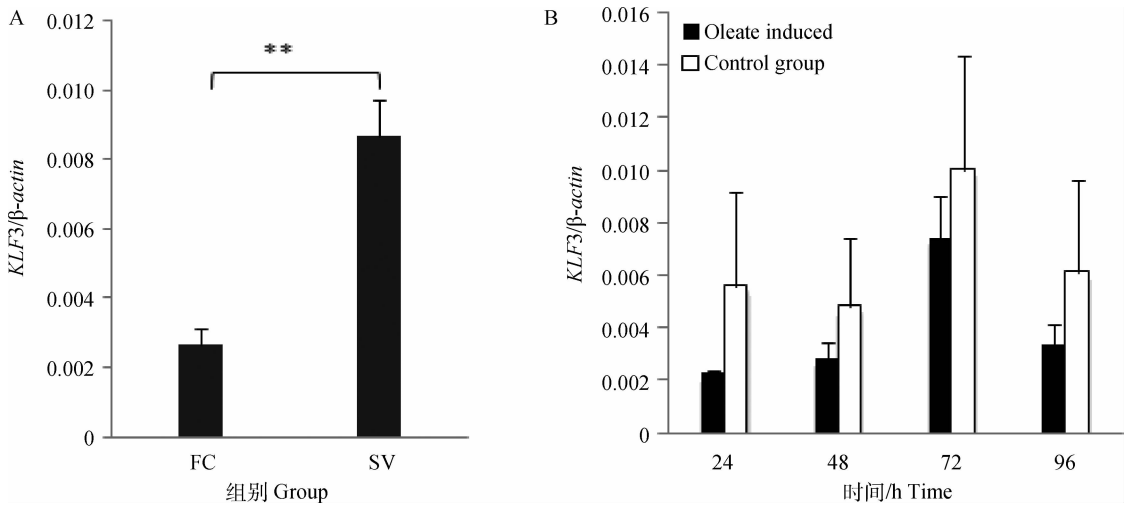


柱状图表示 *gKLF3* 的相对表达量(平均数±标准差), \* 表示差异显著( $P < 0.05$ )

The diagrams show the relative expression of *gKLF3* gene (Mean±SD). \* means significant difference ( $P < 0.05$ )

图 1 *gKLF3* 基因在脂肪组织发育过程中的表达

Fig. 1 Tissue expression pattern of *gKLF3* gene in abdominal fat tissue during development



A. *KLF3* 基因在原代分离(未经培养)的鸡前脂肪细胞和成熟脂肪细胞中的表达规律;B. *KLF3* 基因在油酸诱导分化的前脂肪细胞和对照组(未经油酸诱导分化)中的表达规律。\* \* . 差异极显著( $P < 0.01$ )。下同

A. *KLF3* mRNA expression in chicken preadipocytes(SV) and mature adipocytes(FC) were detected;B. *KLF3* mRNA expression in preadipocytes which induced into differentiation by oleate and control group(which not induced into differentiation) was detected. \* \* indicates significant difference ( $P < 0.01$ ). The same as below

图 2 *gKLF3* 基因在鸡前脂肪细胞和成熟脂肪细胞中表达特性

Fig. 2 Expression characteristics of *gKLF3* gene in chicken preadipocytes and adipocytes

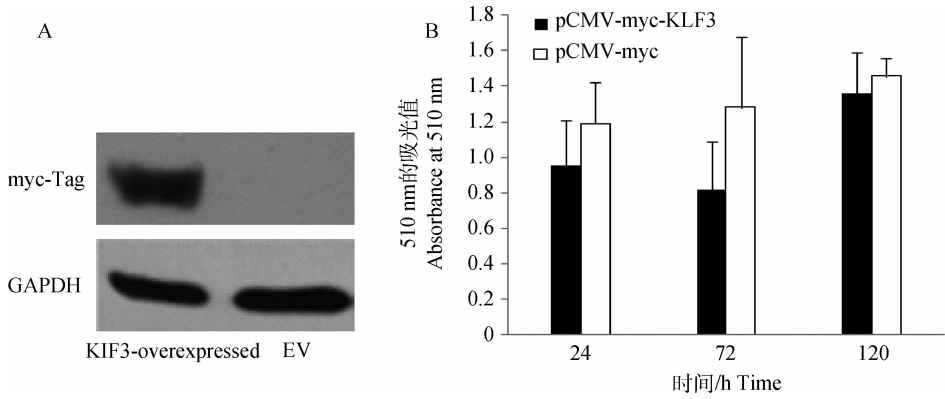
## 2.4 过表达 *gKLF3* 基因对鸡前脂肪细胞分化标志基因的影响

为了分析 *gKLF3* 基因对鸡前脂肪细胞分化的影响,利用 qRT-PCR 检测了脂肪细胞分化过程的标志基因(*FAS*、*C/EBPα*)的表达变化。结果发现,过表达 *gKLF3* 基因,在 24 h 显著抑制 *C/EBPα* 基因的表达( $P < 0.01$ ),在 72 h 显著抑制 *FAS*、*C/EBPα* 基因的表达( $P < 0.01$ ,图 4)。

## 3 讨论

KLF 家族的成员在哺乳动物脂肪发育中发挥

着重要作用<sup>[12-14]</sup>。在 3T3-L1 细胞系中的研究显示,*KLF3* 是脂肪细胞分化的负调控因子,但是 *KLF3* 基因敲除小鼠的脂肪组织减少<sup>[6]</sup>,表明了 *KLF3* 在脂肪组织生长发育过程中具有多个调控功能,目前还没有关于鸟类 *KLF3* 的研究报道,本研究结果显示,*gKLF3* 基因在高低脂系 2~10 周龄肉鸡腹部脂肪组织中均有表达(图 1),暗示了与小鼠 *KLF3* 相似,*gKLF3* 基因在鸡脂肪组织生长发育过程中具有调控作用;在 10 周龄时,高脂肉鸡 *gKLF3* 基因表达水平显著高于低脂肉鸡( $P < 0.05$ ,图 1),暗示 *gKLF3* 的表达水平可能是影响肉鸡腹部脂肪



A. Western blot 检验 pCMV-myc-*gKLF3* 在前脂肪细胞中的过表达效果;B. 油红 O 提取比色分析过表达 *gKLF3* 基因对脂肪细胞脂滴沉积的影响

A. Western blot analysis of *gKLF3* overexpression in chicken preadipocytes transfected with pCMV-myc-*gKLF3* or EV;B. The lipid content of chicken preadipocytes which were transfected with pCMV-myc-*gKLF3* and pCMV-myc, induced into differentiate by oleate, and absorbance was measured at 510 nm

图 3 过表达 *gKLF3* 基因对鸡前脂肪细胞分化的影响

Fig. 3 Effects of *gKLF3* gene over-expression on chicken preadipocyte differentiation

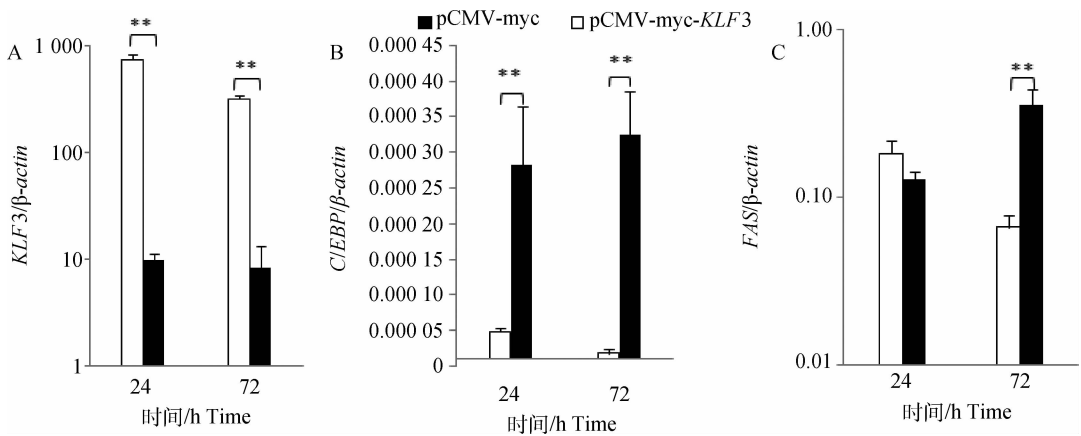


图 4 过表达 *gKLF3* 基因对鸡前脂肪细胞分化标志基因的影响

Fig. 4 Expression analysis of differentiation marker genes in *gKLF3*-overexpressing chicken preadipocytes induced into differentiation by oleate

组织沉积的一个因素。

进一步分析 *gKLF3* 基因在前脂肪细胞和成熟脂肪细胞中的表达发现, *gKLF3* 基因在前脂肪细胞中的表达量高于成熟脂肪细胞 ( $P < 0.01$ , 图 2A), 并且在油酸诱导分化的鸡脂肪细胞中, *gKLF3* 表达水平有普遍低于对照组的趋势, 暗示与哺乳动物相似<sup>[6]</sup>, *gKLF3* 基因在脂肪细胞分化中可能具有负调控作用。为了进一步研究 *gKLF3* 基因对鸡脂肪细胞分化的作用, 笔者在鸡前脂肪细胞中过表达 *gKLF3* 基因, 油红 O 提取比色显示, 在油酸诱导后的 24、72 和 120 h, 过表达 *gKLF3* 基因的脂肪细胞呈现脂滴形成减少的趋势 (图 3B), 进一步暗示 *gKLF3* 基因与小鼠 *KLF3* 类似<sup>[6]</sup>, 在体外具有抑制前脂肪细胞分化的作用。

*C/EBPα* 是哺乳动物和鸟类脂肪形成的重要调控因子<sup>[12,14-16]</sup>。*C/EBPα* 基因敲除小鼠的研究表明, *C/EBPα* 表达是白色脂肪组织发育的必须条件<sup>[17]</sup>。此外, *C/EBPα* 在脂肪细胞终末分化中发挥重要调控作用<sup>[18-20]</sup>。*FAS* 基因在动物体脂沉积中发挥了重要的作用<sup>[21]</sup>, 它可以将碳水化合物合成脂肪酸, 并以甘油三酯的形式储存<sup>[22]</sup>。本研究发现, 过表达 *gKLF3* 基因, 在 72 h 会显著抑制 *FAS*、*C/EBPα* 基因的表达, 在 24 h 显著抑制 *C/EBPα* 基因的表达 (图 4,  $P < 0.01$ )。笔者推断, 与哺乳动物相似<sup>[6]</sup>, *gKLF3* 基因可能通过抑制 *C/EBPα* 基因的表达抑制脂肪细胞分化。而 *gKLF3* 对 *FAS* 具有转录抑制作用, 则暗示了与线虫 *KLF3*<sup>[8]</sup> 相似, *KLF3* 可能具有抑制脂肪酸从头合成和调控脂类沉

积的功能。

综上所述,本研究结果显示 *gKLF3* 和已经报道的哺乳动物及线虫中 *KLF3* 相似,在肉鸡脂肪组织生长发育中至少具有 2 个功能,即抑制脂肪细胞分化和调控脂类合成代谢。此外,*gKLF3* 是否直接调控 *C/EBP $\alpha$* 、*FAS* 基因的表达等具体作用机制,还有待荧光素酶活性检测、染色质免疫共沉淀等试验的进一步分析和验证。

### 参考文献 (References):

- [ 1 ] CROSSLEY M, WHITELAW E, PERKINS A, et al. Isolation and characterization of the cDNA encoding BKLF/TEF-2, a major CACCC-box-binding protein in erythroid cells and selected other cells[J]. *Mol Cell Biol*, 1996, 16(4): 1695-1705.
- [ 2 ] FUNNELL A P, MALONEY C A, THOMPSON L J, et al. Erythroid Krüppel-like factor directly activates the basic Krüppel-like factor gene in erythroid cells[J]. *Mol Cell Biol*, 2007, 27(7): 2777-2790.
- [ 3 ] ULGIATI D, SUBRATA L S, ABRAHAM L J. The role of Sp family members, basic Krüppel-like factor, and E box factors in the basal and IFN-gamma regulated expression of the human complement C4 promoter [J]. *J Immunol*, 2000, 164(1): 300-307.
- [ 4 ] GUO L, HUANG J X, LIU Y, et al. Transactivation of Atg4b by C/EBP beta promotes autophagy to facilitate adipogenesis[J]. *Mol Cell Biol*, 2013, 33(16): 3180-3190.
- [ 5 ] HIMEDA C L, RANISH J A, PEARSON R C, et al. KLF3 regulates muscle-specific gene expression and synergizes with serum response factor on KLF binding sites[J]. *Mol Cell Biol*, 2010, 30(14): 3430-3443.
- [ 6 ] SUE N, JACK B H, EATON S A, et al. Targeted disruption of the basic Krüppel-like factor gene (*Klf3*) reveals a role in adipogenesis [J]. *Mol Cell Biol*, 2008, 28(12): 3967-3978.
- [ 7 ] BELL-ANDERSON K S, FUNNELL A P, WILLIAMS H, et al. Loss of Krüppel-like factor 3 (*KLF3*/BKLF) leads to upregulation of the insulin-sensitizing factor adipolin (*FAM132A*/*CTRP12*/*C1qdc2*) [J]. *Diabetes*, 2013, 62(8): 2728-2737.
- [ 8 ] ZHANG J, YANG C, BREY C, et al. Mutation in *Caenorhabditis elegans* Krüppel-like factor, *KLF-3* results in fat accumulation and alters fatty acid composition [J]. *Exp Cell Res*, 2009, 315(15): 2568-2580.
- [ 9 ] ZHANG J, HASHMI S, CHEEMA F, et al. Regulation of lipoprotein assembly, secretion and fatty acid beta-oxidation by Krüppel-like transcription factor, *klf-3* [J]. *J Mol Biol*, 2013, 425(15): 2641-2655.
- [10] GUO L, SUN B, SHANG Z, et al. Comparison of adipose tissue cellularity in chicken lines divergently selected for fatness [J]. *Poult Sci*, 2011, 90(9): 2024-2034.
- [11] ZHANG Z, WANG H, SUN Y, et al. *Klf7* modulates the differentiation and proliferation of chicken preadipocyte [J]. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2013, 45(4): 280-288.
- [12] ROSEN E D, MACDOUGALD O A. Adipocyte differentiation from the inside out [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2006, 7(12): 885-896.
- [13] LEFTEROVA M I, LAZAR M A. New developments in adipogenesis [J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2009, 20(3): 107-114.
- [14] FARMER S R. Transcriptional control of adipocyte formation [J]. *Cell Metab*, 2006, 4(4): 263-273.
- [15] WANG Y, MU Y, LI H, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma gene: a key regulator of adipocyte differentiation in chickens [J]. *Poult Sci*, 2008, 87(2): 226-232.
- [16] LIU S, WANG Y, WANG L, et al. Transdifferentiation of fibroblasts into adipocyte-like cells by chicken adipogenic transcription factors [J]. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*, 2010, 156(4): 502-508.
- [17] LINHART H G, ISHIMURA-OKA K, DEMAYO F, et al. C/EBPalpha is required for differentiation of white, but not brown, adipose tissue [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2001, 98(22): 12532-12537.
- [18] EL-JACK A K, HAMM J K, PILCH P F, et al. Reconstitution of insulin-sensitive glucose transport in fibroblasts requires expression of both PPARgamma and C/EBP alpha [J]. *J Biol Chem*, 1999, 274(12): 7946-7951.
- [19] LIN F T, LANE M D. CCAAT/enhancer binding protein alpha is sufficient to initiate the 3T3-L1 adipocyte differentiation program [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1994, 91(19): 8757-8761.
- [20] MACDOUGALD O A, HWANG C S, FAN H, et al. Regulated expression of the obese gene product (leptin) in white adipose tissue and 3T3-L1 adipocytes [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1995, 92(20): 9034-9037.
- [21] SMITH S, WITKOWSKI A, JOSHI A K. Structural and functional organization of the animal fatty acid synthase [J]. *Prog Lipid Res*, 2003, 42(4): 289-317.
- [22] CHIRALA S S, WAKIL S J. Structure and function of animal fatty acid synthase [J]. *Lipids*, 2004, 39(11): 1045-1053.