



猪 CA5B 基因的序列特征和表达分析

郭 晋¹, 范新浩², 杨亚岚², 梁国明¹, 唐中林^{1,2*}

(1. 中国农业科学院北京畜牧兽医研究所, 北京 100193;

2. 中国农业科学院农业基因研究所, 广东岭南现代农业科学与技术实验室, 深圳 518120)

摘要: 旨在通过分析猪 CA5B(线粒体碳酸酐酶 VB, carbonic anhydrase 5b, mitochondria; CA5B/CAVB/Car5b) 基因的序列特征和时空表达, 解析 CA5B 对猪组织器官发育和代谢的影响。本研究采集 6 头 240 日龄贵州猪(公、母各 3 头)的心、肝、脾、肺、肾、皮下脂肪、背最长肌、睾丸、卵巢, 采集通城猪和长白猪 27 个生长发育时间点(出生前 33、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、105 d 和出生后 0、9、20、30、40、60、80、100、120、140、160、180 d)(每个品种 3 头)的骨骼肌, 提取上述组织器官 RNA 进行转录组测序, 分析 CA5B 基因的组织表达谱以及骨骼肌 27 个生长发育时间点的时序表达; 基于 NCBI 数据库中 CA5B 蛋白序列, 进行物种间的保守性分析, 构建系统进化树, 分析蛋白互作网络; 通过 TargetsScan、PicTar 和 miRanda 等软件预测与 CA5B 结合的潜在 miRNAs, 并在猪 RNA 编辑数据库中分析 CA5B 基因潜在的 RNA 编辑位点。结果发现, CA5B 基因在猪、人、小鼠、猴、牛、马、山羊、绵羊、狗和猫中高度保守, 相对于小鼠而言, 猪 CA5B 蛋白优先与人聚为一类。CA5B 蛋白与线粒体跨膜运输蛋白、类肌球蛋白卷曲螺旋蛋白、细胞色素家族等互作; CA5B 在猪的脂肪、睾丸以及卵巢中高表达, 在骨骼肌生长发育过程中胚胎期的表达高于出生后阶段; 靶标预测结果表明, CA5B 可能受 ssc-miR-22-5p 调控($P < 0.05$); 此外, CA5B 还存在 3 个 RNA 编辑位点。结果提示, CA5B 可能在猪骨骼肌生长发育和能量储存利用中起重要作用。

关键词: 猪; CA5B; 时空表达; 序列特征; miRNA; RNA 编辑

中图分类号: S828.2

文献标志码: A

文章编号: 0366-6964(2021)02-0322-09

Sequence Characteristics and Expression Analysis of CA5B Gene in Pigs

GUO Jin¹, FAN Xinhao², YANG Yalan², LIANG Guoming¹, TANG Zhonglin^{1,2*}(1. *Institute of Animal Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China*; 2. *Guangdong Laboratory of Lingnan Modern Agriculture, Agricultural Genomics Institute at Shenzhen, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Shenzhen 518120, China*)

Abstract: This study aimed to analyze the effects of CA5B (carbonic anhydrase 5b, mitochondria; CA5B/CAVB/Car5b) on the organ/tissue development and metabolism in pigs through investigating its sequence characteristics and spatial expression patterns. The heart, liver, spleen, lung, kidney, subcutaneous fat, *longissimus dorsi*, testis and ovary tissues of 3 boars and 3 sows of 240-day-old Guizhou pigs were collected, and the skeletal muscle tissues at 27 growth and development time points (33, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 105 days before birth and 0, 9, 20, 30, 40, 60, 80, 100, 120, 140, 160, 180 days after birth) of 3 Tongcheng

收稿日期: 2020-06-30

基金项目: 广东省重点领域研发计划(现代种业)项目(2018B020203002; 2018B020203003); 国家自然科学基金(31830090); 转基因生物新品种培育重大专项(2016ZX08009-003-006)

作者简介: 郭 晋(1990-), 女, 陕西南郑人, 硕士, 主要从事功能基因组方面的研究, E-mail: 82101175134@caas.cn

* 通信作者: 唐中林, 主要从事动物基因组设计育种研究, E-mail: tangzhonglin@caas.cn

pigs and 3 Landrace pigs were also collected. We performed transcription sequencing using RNA extracted from the above tissues, and analyzed the expression profile of CA5B gene in 9 tissues and its temporal expression in skeletal muscle at 27 development time points. Then the conservative analysis among species, construction of phylogenetic tree and protein interaction network analysis of CA5B gene were conducted based on its protein sequence extracted from NCBI database. Finally, three softwares (Targetscan, PicTar, miRanda) were used to predict the potential miRNAs binded to CA5B gene. The RNA editing sites located in CA5B gene were also detected using the RNA editing database. The results showed that CA5B gene was highly conservative expressed in pig, human, mouse, monkey, cattle, horse, goat, sheep, dog and cat, moreover, the pig and human had higher homology than mouse based on the protein sequence of CA5B. Interaction network showed that CA5B protein mainly interacted with mitochondrial transmembrane transport protein, myosin-like coiled-coil protein, cytochrome family and other proteins. The CA5B was highly expressed in fat, testis and ovary, and the expression level in embryonic period was higher than that in postnatal period in skeletal muscle. In addition, target prediction results suggested that CA5B might be regulated by ssc-miR-22-5p ($P < 0.05$), and there were 3 RNA editing sites in CA5B. The results suggested that CA5B potentially play an important role in skeletal muscle growth, development, energy storage and utilization in pig.

Key words: pig; CA5B; spatiotemporal expression; sequence characteristics; miRNA; RNA editing

* **Corresponding author:** TANG Zhonglin, E-mail: tangzhonglin@caas.cn

碳酸酐酶(carbonic anhydrase, CAs)是一类可催化二氧化碳和碳酸氢盐的可逆水合金属酶^[1],在不同物种的组织 and 细胞中表达水平不同^[2]。由于 CAs 抑制剂与糖异生、尿素生成、脂肪生成、肿瘤发生等多种生理反应有关^[3-4], CAs 抑制剂现已成为肥胖和肿瘤等疾病治疗的药物^[5-6]。线粒体(mitochondria, MT)通过它自身表达的 DNA、细胞质中核基因编码的蛋白质和酶完成细胞内的生物氧化过程^[7]。研究发现,线粒体 CA 调节葡萄糖的氧化代谢、ROS 的产生和氧化应激、线粒体的生物发生^[8]。线粒体碳酸酐酶两种同工酶 CA5A(carbonic anhydrase, mitochondrial, 5A; CA5A)和 CA5B(carbonic anhydrase, mitochondrial, 5B; CA5B)(以前被称为 CAVA 和 CAVB)在线粒体丙酮酸代谢中发挥关键作用,其通过可逆水合二氧化碳产生 HCO_3^- : $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{H}_2\text{CO}_3 \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{HCO}_3^-$ ^[9],为丙酮酸转化为草酰乙酸提供 HCO_3^- ,使草酰乙酸进入三羧酸循环途径,是葡萄糖有氧代谢过程的关键底物。

人源碳酸酐酶(hCAs)参与大量的生理和病理过程,包括糖异生、脂肪生成、尿素生成、致瘤性以及各种病原体的生长和毒性^[6, 10],CA5(以前被称为 CAV)在糖异生、脂肪生成^[6]、代谢调控^[8, 11]和疾病发生^[6, 8, 11-12]中发挥关键作用。目前,这些 hCAs 已

作为药物靶点被深入研究,几种 hCA 抑制剂已在临床应用^[6]。小鼠线粒体碳酸酐酶 CA5B 与 CA5A 具有同源性^[13],小鼠 CA5B 基因在成年皮下脂肪和生殖器脂肪中表达量最高,小鼠胰岛细胞中 CA5 在功能上可能与调节胰岛素分泌有关^[14],此外,小鼠 CA5 参与调节脂肪细胞的丙酮酸羧化^[15]和丙酮酸糖异生^[16]。双敲除(double knockout,DKO)CA5A 和 CA5B 使小鼠高氨血症增强和空腹血糖降低,表明 CA5A 和 CA5B 有助于尿素生成和调节糖异生^[17]。

猪是人类最重要的蛋白来源和生物医学模式动物之一。碳水化合物和脂肪是参与能量代谢的主要物质,因此,研究分析猪代谢相关基因对于肉品质的改良有重要作用。目前,猪 CA5B 基因还没有注释,其表达及调控机制尚不清楚。本研究利用猪转录组数据分析 CA5B 基因在发育过程中的表达特征以及组织中的表达情况,为研究 CA5B 的功能提供依据。

1 材料与amp;方法

1.1 试验材料

采集 240 日龄贵州小型猪(公、母各 3 头)的心、肝、脾、肺、肾、皮下脂肪、背最长肌、睾丸、卵巢组织。此外,采集通城猪和长白猪各 27 个生长发育时间点(出生前 33、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、

95、100、105 d 和出生后 0、9、20、30、40、60、80、100、120、140、160、180 d) 的骨骼肌, 每个品种每个时间点采集 3 头猪。上述组织样品立即现场液氮快速冻存, 然后转移至 -80°C 冰箱保存备用。

1.2 试验设备及试剂

台式低温离心机 (Ependorff)、样品研磨仪 (Tekmar)、制冰机 (SANYO)、1.5 mL 离心管 (AXY-GEN)、总 RNA 提取试剂盒 (天根)。

1.3 试验方法

1.3.1 RNA 提取 取低温保存的猪上述各种组织样本提取总 RNA, 提取流程参照天根试剂盒说明书, 提取的总 RNA 保存在 -80°C 冰箱备用。

1.3.2 RNA 转录组测序 取冻存的 RNA, 根据 Illumina[®] TruSeq[™] RNA 样品制备流程, 构建 cDNA 文库, 利用 Illumina HiSeq[™]2500, 采用双端测序方法进行转录组测序, 测序数据已上传至 NCBI 数据库 (GSE73763 和 PRJNA488311)。

1.3.3 RNA 测序数据处理 用 TopHat2^[18] 将得到的 RNA 测序数据比对到猪的参考基因组上, 经过注释和计算, 得到 CA5B 基因在各个样本中 RPKM (每万 reads 中来自某基因每千碱基长度的 reads 数) 的表达情况。

1.3.4 CA5B 功能预测 从 NCBI 数据库下载猪、人、小鼠、猴、牛、马、山羊、绵羊、狗和猫的 CA5B 基因的蛋白质序列, 利用 EBI 的多序列比对软件 Clustal Omega (<https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/>) 对不同物种的 CA5B 进行多序列比对分析, 利用 STRING 数据库 (<https://string-db.org>) 分析 CA5B 与其它蛋白的相互作用, 利用 DREP^[19] 数据库 (<http://www.rnanet.org/editing/>) 分析 CA5B 潜在的 RNA 编辑位点, 利用 Targetscan、PicTar 和 miRanda 工具预测 CA5B 基因的 3'UTR 区域与 miRNA 结合位点, 用 R 语言的 cor.test() 函数计算 CA5B 基因和 miRNA 表达量之间的相关系数。

2 结果

2.1 CA5B 的序列保守性分析

由于小鼠和人 CA5B 基因功能已有报道研究, 为了探究猪 CA5B 基因功能, 首先分析了猪、小鼠与人 CA5B 基因的保守性。从 NCBI 数据库下载猪 (XP_020935797.1)、人 (EAW98898.1)、小鼠 (NP_851832.2)、猴、牛、马、山羊、绵羊、狗和猫的 CA5B

蛋白序列, 利用 EBI 的多序列比对软件 Clustal Omega (<https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/>) 进行多序列比对分析。图 1 为 10 个物种蛋白编码序列的比对结果, 在人、猪、小鼠、猴、牛、马、山羊、绵羊、狗和猫中, 除小鼠外, 其余序列相似性均在 90% 左右; 就猪、人和小鼠的比对结果来看, 猪和小鼠 CA5B 序列一致性为 86.4%, 而猪和人同源性为 90.5%。说明猪 CA5B 蛋白序列与人相似度更近, 与小鼠次之。

2.2 CA5B 的系统发育树

为研究 CA5B 基因在不同物种中的进化关系, 利用 MEG5 软件, 以猪、人、小鼠、猴、牛、马、山羊、绵羊、狗和猫的 CA5B 的蛋白序列构建系统发育树。结果发现, 猪、狗与猫 CA5B 聚为一支, 牛、绵羊与山羊 CA5B 聚为一支, 这两支属于同一大分支, 与人、猴 CA5B 具有相同的来源。这 8 个物种与马聚为一大支, 最后与小鼠 CA5B 聚为一支 (图 2)。表明, 与小鼠相比较, 猪与人 CA5B 在进化上更近。

2.3 CA5B 的蛋白互作网络分析

利用 STRING 数据库 (<https://string-db.org>) 分析 CA5B 与其它蛋白的相互作用。结果发现, 与 CA5B 互作的蛋白包括 TMEM35、CYP24A1 和 XPNPEP2 等基因编码的蛋白质 (图 3)。通过在 NCBI 数据库 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>) 和 Uniprot 数据库 (<https://www.uniprot.org/uniprot/>) 中检索发现, 与 CA5B 蛋白互作的这些基因在猪中的注释较少, 在人和小鼠中有较多注释。

CA5B 互作蛋白功能: 跨膜蛋白 (transmembrane protein 35A, TMEM35) 在细胞的过氧化物酶体中释放的可溶性肽可调节神经元轴突的生长; 雄性致死因子 3 (male-specific lethal 3, MSL3) 具有组蛋白乙酰转移酶活性及与甲基化组蛋白结合功能, 在染色质重塑和转录调节中发挥作用; 溶质载体家族成员 (solute carrier family 25 member 30, SLC25A30) 为在小鼠和人心肌、骨骼肌中特异性表达的线粒体转运蛋白, 完成线粒体内外的物质运输; 富含脯氨酸的 Gla 1 (proline rich Gla 1, PRRG1) 可编码跨膜蛋白 TMEM171, 可与钙离子结合; 细胞色素 P450 (cytochrome P450, family 24, subfamily a, polypeptide 1, CYP24A1) 基因编码的蛋白质作用于线粒体, 其将骨化三醇降解为骨化醇, 在维生素 D 分解和钙稳态中起关键作用; TXLNG (taxilin gamma, taxiliny) 基因可编码类肌球蛋白卷曲螺旋

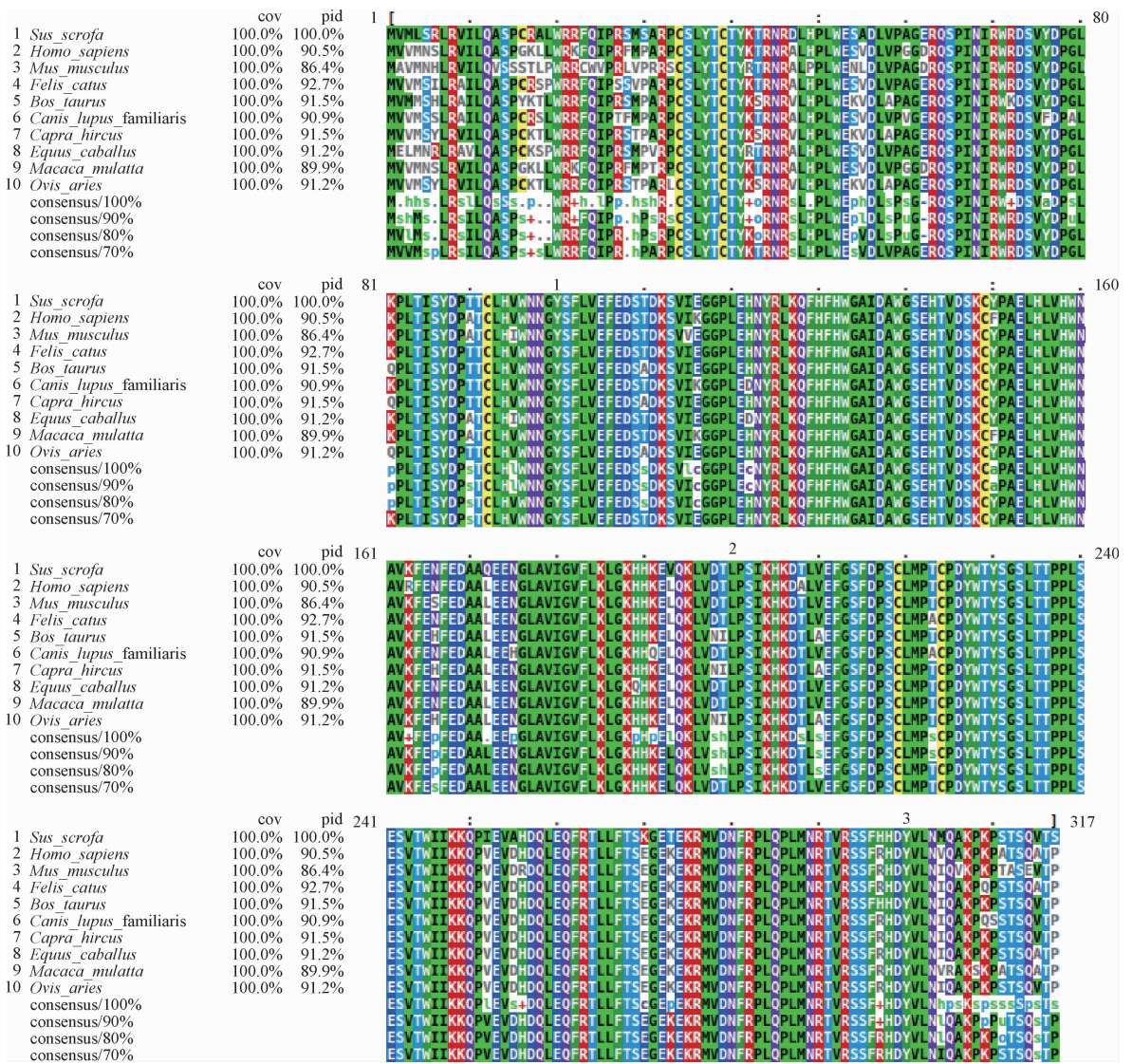


图 1 不同物种 CA5B 基因的氨基酸序列比对结果

Fig. 1 Alignment of CA5B amino acid sequence among different species

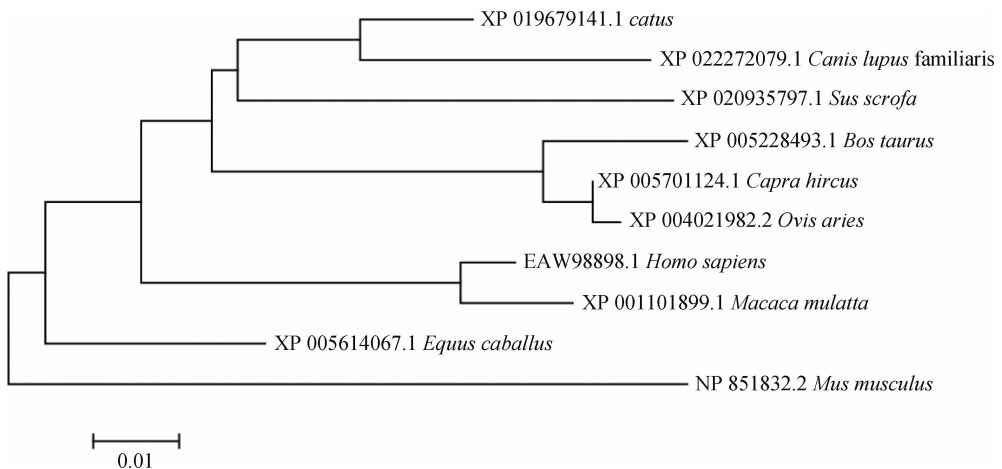


图 2 CA5B 序列的系统发育树

Fig. 2 Phylogenetic tree for CA5B sequence

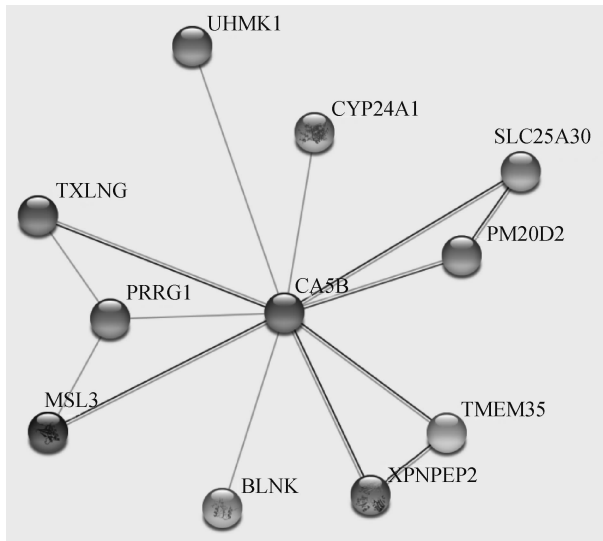


图3 CA5B 的蛋白互作网络
Fig. 3 Interaction network for CA5B protein

蛋白,在人和小鼠的细胞内囊泡运输中发挥作用,可能参与调控细胞周期和调节骨密度,该基因的表达可能引起脂多糖的上调;肽酶 M20 结构域(peptidase M20 domain containing 2, *PM20D2*)编码氨基酰化酶和氨基水解酶,催化蛋白质水解;X-脯氨酰氨肽酶 2 (*X-prolyl aminopeptidase 2*, *XPNPEP2*)基因编码氨基肽酶,催化邻近脯氨酸残基的 N 端裂解。

根据 CA5B 蛋白互作网络关系中互作蛋白的功能,推测 CA5B 可能参与调节生长和发育,线粒体内物质转运和线粒体外跨膜运输,并且可能与骨骼肌钙稳态调节、细胞蛋白质分解、脂多糖代谢调控有关。

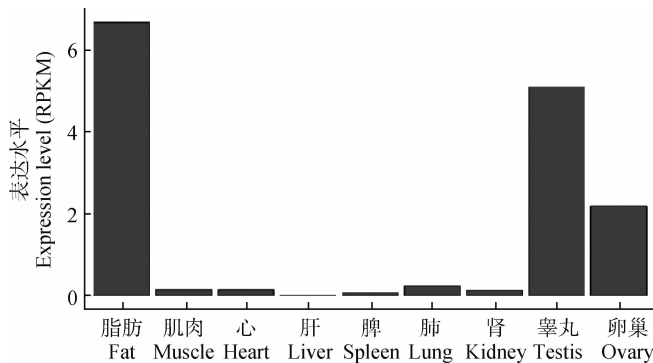


图4 CA5B 基因在猪中的组织表达谱
Fig. 4 Tissue expression patterns of CA5B gene in pigs

2.7 CA5B 与 miRNA 结合的生物信息分析

为找到可能调节 CA5B 的 miRNA,本研究利用 Targetscan、PicTar 和 miRanda 工具预测 CA5B 基因的 3' UTR 区域与 miRNA 的结合位点,结果发现,ssc-miR-22-5p 可以与 CA5B 基因 3' UTR 靶向

2.4 CA5B 基因的组织表达谱

为了研究 CA5B 在各组织器官中的表达特点,本研究利用已有的贵州小型猪心、肝、脾、肺、肾、皮下脂肪、背最长肌、睾丸、卵巢 9 种组织的 RNA 数据^[20],分析 CA5B 在各种组织器官中的表达水平。结果发现,CA5B 在成年猪的脂肪、睾丸、卵巢中高表达,在骨骼肌、心肌和肾中表达水平较低(图 4)。

2.5 CA5B 在骨骼肌生长发育中的时序表达

为了了解 CA5B 在骨骼肌生长发育过程中的作用,本研究利用已有的高通量测序数据,首次分析了该基因在通城猪和长白猪 27 个生长发育时间点(E33-D180)中骨骼肌的动态表达。发现,CA5B 的表达水平在通城猪和长白猪的胚胎期高于出生后时期,在胚胎期逐渐升高,出生后降低;并且在胚胎发育后期 80 d(E80)到出生 0 d(D0)表达水平较高,通城猪在胚胎期 80 d(E80)时表达水平最高,而长白猪在胚胎期 85 d(E85)时表达水平最高(图 5)。可以推断,在通城猪和长白猪骨骼肌生长发育过程中,CA5B 基因在胚胎期有重要作用,并且在胚胎骨骼肌发育后期至出生前发挥重要功能。

2.6 CA5B 的 RNA 编辑

为探究 CA5B 的 RNA 编辑位点,在 DREP^[19]数据库(<http://www.rnanet.org/editing/>)中分析 CA5B 潜在的 RNA 编辑位点,结果在 CA5B 基因的内含子区域和 3' UTR 区域分别找到了 1 个和 2 个 A-to-G 类型的 RNA 编辑位点,这 3 个位点均位于重复元件 Pre0_SS 区域,属于 SINE/tRNA 家族(表 1)。

结合(图 6)。通过计算 CA5B 基因和 miRNA 表达量之间的相关系数和 *P* 值,发现 CA5B 与 ssc-miR-22-5p 在猪骨骼肌生长发育过程中的表达呈显著负相关($R = -0.31$, $P = 0.022$,图 7)。表明 CA5B 的表达潜在受 ssc-miR-22-5p 调控。

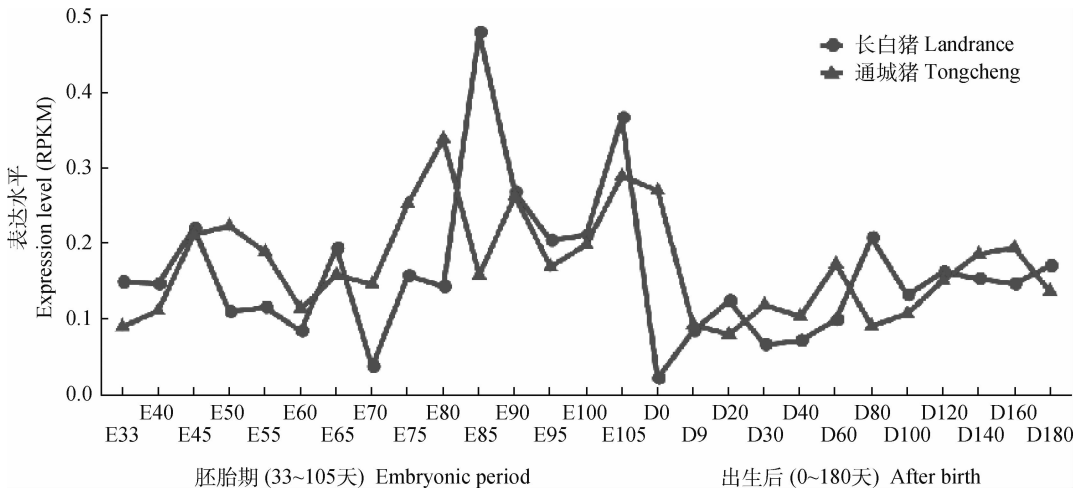


图 5 CA5B 在通城猪和长白猪 27 个生长发育时间点骨骼肌中的动态表达

Fig. 5 The dynamic expression of CA5B gene across 27 growth and development time points in Tongcheng and Landrace pigs

表 1 CA5B 的 RNA 编辑位点信息

Table 1 The RNA editing sites for CA5B

染色体	位置	类型	串	位置	重复名	重复家族
Chromosome	Position	Type	Strand	Location	Repeat name	Repeat family
X	12 239 737	A->G	+	intron	Pre0_SS	SINE/tRNA
X	12 330 122	A->G	+	3'UTR	Pre0_SS	SINE/tRNA
X	12 330 127	A->G	+	3'UTR	Pre0_SS	SINE/tRNA

ssc-miR-22-5p: 3' atttcgaacggtgaCTTCTTGa 5'

|||||

CA5B: 5' taaaggaagaatggGAAGAACa 3'

图 6 CA5B 与 miR-22-5p 靶向结合序列

Fig. 6 Targeting sequence of CA5B combined with miR-22-5p

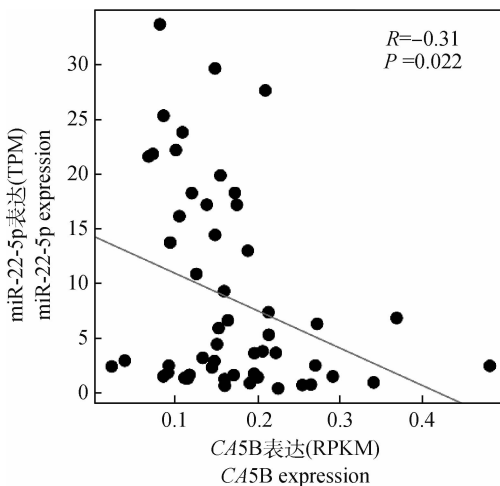


图 7 CA5B 与 miR-22-5p 表达相关性

Fig. 7 Expression correlation of CA5B with miR-22-5p

3 讨论

线粒体在细胞和组织代谢中发挥重要作用,CA 在线粒体内不可或缺而被广泛研究。CA5B 和 CA5A 是线粒体丙酮酸代谢的重要底物,在葡萄糖有氧代谢过程中发挥关键作用。从组织表达情况来看,小鼠 CA5B 和 CA5A 的表达呈现出不同的组织特异性,在大多数组织中都检测到 CA5B,而 CA5A 的表达仅限于肝、骨骼肌和肾^[13]。从序列上来看,CA5A 基因序列在小鼠和人之间有 78% 相似性,CA5B 基因序列在小鼠和人之间有 95% 相似性,CA5B 的保守性更高^[13]。人和小鼠 CA 同工酶序列之间的系统发育树表明,CA5B 和 CA5A 都是从人和小鼠的祖先基因进化而来,并已经进化出了不同的生理作用^[13]。本研究将小鼠 CA5B 的蛋白结构域序列与人和猪报道的 CA5B 结构域序列进行比较发现,CA5B 结构域在猪和人之间的保守性(90.5% 一致性)高于猪和小鼠 CA5B 保守性(86.4% 一致性)。系统发育分析显示,人和猪 CA5B 在进化树上优先聚为一类,最后与小鼠聚在一起。因此,可以推

断 CA5B 基因在物种间的保守性更高。

根据分析结果发现,CA5B 蛋白互作网络中的基因编码肌球蛋白卷曲螺旋蛋白、钙稳态调节蛋白、线粒体跨膜蛋白、线粒体转运蛋白以及氨基水解蛋白。据文献报道,离子通道和代谢底物转运中,人线粒体溶质载体 SLC 家族与 CA5B 蛋白表达相关^[21],推测 CA5B 在猪中可能也参与调控线粒体内物质转运过程,在线粒体内能量代谢中发挥重要作用。根据 CA5B 高表达于猪的脂肪、睾丸和卵巢组织,这些都是 ATP 合成和利用的重要组织器官。CA5B 基因在小鼠成年皮下脂肪和生殖器脂肪表达量最高,其参与调节脂肪丙酮酸羧化^[15]、糖异生和尿素生成^[17]。因此,推测 CA5B 在猪中可能也参与调控糖和脂肪的代谢。在猪骨骼肌 27 个生长发育时间点中,CA5B 基因胚胎期表达水平高于出生后时期。推测猪的 CA5B 与骨骼肌生长发育以及能量储存和利用有密切关系。与此同时,还发现 CA5B 可能受 ssc-miR-22-5p 调控。miRNA 对机体发育和代谢具有重要的调节作用^[22-23],是靶基因表达的关键调节因子^[24],参与调节骨骼肌细胞增殖^[25-26]、分化^[27-28]和再生^[29],一些 miRNA 调节成脂基因的表达、脂肪的形成^[30]和分化^[31]、白色脂肪棕色化^[32]以及棕色脂肪扩张^[33]。据研究报道,miR-22-5p 是脂肪来源间充质干细胞的重要参考基因^[34],还在骨溶解中发挥重要作用^[35]。因而,进一步推测 ssc-miR-22-5p 可能通过靶向 CA5B 参与调节猪的体内发育和代谢。最后,本研究分析发现了 CA5B 基因的 3 个 A-to-G 编辑位点。RNA 编辑位点可能参与调节基因表达和细胞功能^[36]、骨骼肌发育^[19]、疾病发生^[37]和肿瘤的发展^[38],可能对猪基因的表达进行调控。

猪是重要的家畜,为我们的生活提供大量的蛋白质和脂肪。因此,研究分析参与调节猪糖代谢和脂肪生成的 CA5B 基因对于肉品质的改良有一定的参考作用。但是,现在对猪 CA5B 的研究较少,因此需要对该基因进行深入的挖掘以及功能验证。

4 结 论

本研究初步探讨了 CA5B 基因在 10 个物种间的保守性和进化特征,CA5B 蛋白可能参与细胞内线粒体内外 ATP 的合成、物质转运以及体内氨基酸的分解代谢。ssc-miR-22-5p 和 3 个 RNA 编辑位点潜在参与调控 CA5B 基因表达。CA5B 可能在猪胚胎期的

发育过程中发挥重要功能,在猪出生后能量储存和利用的组织中有关键作用。以上结果为更深入研究猪 CA5B 的功能提供了重要的信息和奠定了基础。

致 谢

感谢北京畜牧兽医研究所猪基因工程与种质创新团队提供的科研平台,感谢实验室师兄、师姐、师弟、师妹在样品采集和数据分析时提供的帮助和支持,感谢团队所有人员的照顾和帮助。

参 考 文 献 (References):

- [1] HASSAN M I, SHAJEE B, WAHEED A, et al. Structure, function and applications of carbonic anhydrase isozymes[J]. *Bioorg Med Chem*, 2013, 21(6): 1570-1582.
- [2] MCKENNA R, FROST S C. Overview of the carbonic anhydrase family[J]. *Subcell Biochem*, 2014, 75: 3-5.
- [3] DODGSON S J, FORSTER II R E. Carbonic anhydrase; inhibition results in decreased urea production by hepatocytes[J]. *J Appl Physiol* (1985), 1986, 60(2): 646-652.
- [4] RASMUSSEN J K, BOEDTKJER E. Carbonic anhydrase inhibitors modify intracellular pH transients and contractions of rat middle cerebral arteries during CO₂/HCO₃⁻ fluctuations[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2018, 38(3): 492-505.
- [5] RAHMAN S, BIBI S, JAVED T, et al. Review: therapeutic potential of carbonic anhydrase inhibitors [J]. *Pak J Pharm Sci*, 2019, 32(2): 709-720.
- [6] COSTA G, CARTA F, AMBROSIO F A, et al. A computer-assisted discovery of novel potential anti-obesity compounds as selective carbonic anhydrase VA inhibitors [J]. *Eur J Med Chem*, 2019, 181: 111565.
- [7] VAN DER BLIEK A M, SEDENSKY M M, MORGAN P G. Cell biology of the mitochondrion [J]. *Genetics*, 2017, 207(3): 843-871.
- [8] BERNARDINO R L, DIAS T R, MOREIRA B P, et al. Carbonic anhydrases are involved in mitochondrial biogenesis and control the production of lactate by human Sertoli cells [J]. *FEBS J*, 2019, 286(7): 1393-1406.
- [9] PRICE T O, ERANKI V, BANKS W A, et al. Topiramate treatment protects blood-brain barrier pericytes from hyperglycemia-induced oxidative damage in diabetic mice[J]. *Endocrinology*, 2012, 153

- (1):362-372.
- [10] LI Z,JIANG L,CHEW S H,et al. Carbonic anhydrase 9 confers resistance to ferroptosis/apoptosis in malignant mesothelioma under hypoxia [J]. *Redox Biol*,2019,26:101297.
- [11] VAN KARNEBEEK C D,SLY W S,ROSS C J,et al. Mitochondrial carbonic anhydrase VA deficiency resulting from CA5A alterations presents with hyperammonemia in early childhood[J]. *Am J Hum Genet*,2014,94(3):453-461.
- [12] SOLESIO M E,PEIXOTO P M,DEBURE L,et al. Carbonic anhydrase inhibition selectively prevents amyloid β neurovascular mitochondrial toxicity [J]. *Aging Cell*,2018,17(4):e12787.
- [13] SHAH G N,HEWETT-EMMETT D,GRUBB J H,et al. Mitochondrial carbonic anhydrase CA VB: differences in tissue distribution and pattern of evolution from those of CA VA suggest distinct physiological roles[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*,2000,97(4):1677-1682.
- [14] PARKKILA A K,SCARIM A L,PARKKILA S,et al. Expression of carbonic anhydrase V in pancreatic beta cells suggests role for mitochondrial carbonic anhydrase in insulin secretion[J]. *J Biol Chem*,1998,273(38):24620-24623.
- [15] HAZEN S A,WAHEED A,SLY W S,et al. Differentiation-dependent expression of CA V and the role of carbonic anhydrase isozymes in pyruvate carboxylation in adipocytes [J]. *FASEB J*,1996,10(4):481-490.
- [16] DODGSON S J,FORSTER R E. Inhibition of CA V decreases glucose synthesis from pyruvate [J]. *Arch Biochem Biophys*,1986,251(1):198-204.
- [17] SHAH G N,RUBBELKE T S,HENDIN J,et al. Targeted mutagenesis of mitochondrial carbonic anhydrases VA and VB implicates both enzymes in ammonia detoxification and glucose metabolism [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*,2013,110(18):7423-7428.
- [18] KIM D,PERTEA G,TRAPNELL C,et al. TopHat2: accurate alignment of transcriptomes in the presence of insertions, deletions and gene fusions [J]. *Genome Biol*,2013,14(4):R36.
- [19] YANG Y L,ZHU M,FAN X H,et al. Developmental atlas of the RNA editome in *Sus scrofa* skeletal muscle [J]. *DNA Res*,2019,26(3):261-272.
- [20] LIANG G M,YANG Y L,NIU G L,et al. Genome-wide profiling of *Sus scrofa* circular RNAs across nine organs and three developmental stages [J]. *DNA Res*,2017,24(5):523-535.
- [21] HAMURO J,DEGUCHI H,FUJITA T,et al. Polarized expression of ion channels and solute carrier family transporters on heterogeneous cultured human corneal endothelial cells [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*,2020,61(5):47.
- [22] HOU X H,TANG Z L,LIU H L,et al. Discovery of MicroRNAs associated with myogenesis by deep sequencing of serial developmental skeletal muscles in pigs [J]. *PLoS One*,2012,7(12):e52123.
- [23] YANG Y L,LI Y,LIANG R Y,et al. Dynamic expression of MicroRNA-127 during porcine prenatal and postnatal skeletal muscle development [J]. *Journal of Integr Agric*,2014,13(6):1331-1339.
- [24] LU T X,ROTHENBERG M E. MicroRNA [J]. *J Allergy Clin Immunol*,2018,141(4):1202-1207.
- [25] WU N Z,GU T T,LU L,et al. Roles of miRNA-1 and miRNA-133 in the proliferation and differentiation of myoblasts in duck skeletal muscle [J]. *J Cell Physiol*,2019,234(4):3490-3499.
- [26] JIANG A W,DONG C,LI B J,et al. MicroRNA-206 regulates cell proliferation by targeting G6PD in skeletal muscle [J]. *FASEB J*,2019,33(12):14083-14094.
- [27] WANG J,TAN J Y,QI Q,et al. miR-487b-3p suppresses the proliferation and differentiation of myoblasts by targeting IRS1 in skeletal muscle myogenesis [J]. *Int J Biol Sci*,2018,14(7):760-774.
- [28] KONG D L,HE M,YANG L,et al. MiR-17 and miR-19 cooperatively promote skeletal muscle cell differentiation [J]. *Cell Mol Life Sci*,2019,76(24):5041-5054.
- [29] ZENG P,HAN W H,LI C Y,et al. miR-378 attenuates muscle regeneration by delaying satellite cell activation and differentiation in mice [J]. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*,2016,48(9):833-839.
- [30] GERIN I,BOMMER G T,MCCOIN C S,et al. Roles for miRNA-378/378* in adipocyte gene expression and lipogenesis [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*,2010,299(2):E198-E206.
- [31] ESAU C,KANG X L,PERALTA E,et al. MicroRNA-143 regulates adipocyte differentiation [J]. *J Biol Chem*,2004,279(50):52361-52365.
- [32] LIU W Y,BI P P,SHAN T Z,et al. miR-133a

- regulates adipocyte browning *in vivo* [J]. *PLoS Genet*, 2013, 9(7): e1003626.
- [33] PAN D N, MAO C X, QUATTROCHI B, et al. MicroRNA-378 controls classical brown fat expansion to counteract obesity[J]. *Nat Commun*, 2014, 5: 4725.
- [34] RAGNI E, ORFEI C P, DE LUCA P, et al. miR-22-5p and miR-29a-5p are reliable reference genes for analyzing extracellular vesicle-associated miRNAs in adipose-derived mesenchymal stem cells and are stable under inflammatory priming mimicking osteoarthritis condition [J]. *Stem Cell Rev Rep*, 2019, 15 (5): 743-754.
- [35] YANG X C, ZHANG Y Y, LI Y S, et al. MALAT1 enhanced the proliferation of human osteoblasts treated with ultra-high molecular weight polyethylene by targeting VEGF via miR-22-5p [J]. *Int J Mol Med*, 2018, 41(3): 1536-1546.
- [36] GATSIOU A, VLACHOGIANNIS N, LUNELLA F F, et al. Adenosine-to-Inosine RNA editing in health and disease[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2018, 29(9): 846-863.
- [37] STELLOS K, GATSIOU A, STAMATELOPOULOS K, et al. Adenosine-to-inosine RNA editing controls cathepsin S expression in atherosclerosis by enabling HuR-mediated post-transcriptional regulation[J]. *Nat Med*, 2016, 22(10): 1140-1150.
- [38] VELAZQUEZ-TORRES G, SHOSHAN E, IVAN C, et al. A-to-I miR-378a-3p editing can prevent melanoma progression via regulation of *PARVA* expression[J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 461.

(编辑 郭云雁)