

Xiao H X, Liu T Q, Lu C Y, *et al.* The sequence characteristics of *lpl-a* in common carp (*Cyprinus carpio*) and the effects of its overexpression on fat deposition [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2026, 50(4): 042607. [肖黄璇, 刘天奇, 鲁翠云, 等. 鲤*lpl-a*序列特征及其过表达对脂肪变化的影响 [J]. 水生生物学报, 2026, 50(4): 042607.]

鲤*lpl-a*序列特征及其过表达对脂肪变化的影响

肖黄璇^{1,2} 刘天奇² 鲁翠云² 孙志鹏² 张渴新² 任舒乐² 那荣滨² 郑先虎^{1,2}

(1. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306; 2. 中国水产科学研究院黑龙江水产研究所淡水鱼类育种国家地方联合工程实验室, 农业农村部淡水水产生物技术与遗传育种重点实验室, 哈尔滨 150070)

摘要: 为探究过表达鲤(*Cyprinus carpio*)脂蛋白脂肪酶a (*lipoprotein lipase a*, *lpl-a*)基因对脂肪沉积模式及脂代谢基因表达的影响, 本研究分析了鲤*lpl-a*基因序列及结构特征, 检测*lpl-a*在鲤5种体内组织(腹腔脂肪、肝、肾、肌肉、肠)的表达量, 基于同源重组技术构建鲤*lpl-a*过表达质粒载体, 导入斑马鱼活体和鲤肝细胞, 分析过表达*lpl-a*对总胆固醇(T-CHO)、甘油三酯(TG)含量及脂代谢标志基因(*ppar* γ 、*fabp* 3、*pnpla* 2等)表达的影响。结果, 预测鲤*lpl-a*有7个开放阅读框、编码507个氨基酸大小的蛋白质, 其在硬骨鱼的进化中有较高保守性; 体内组织表达显示*lpl-a*呈显著特异性表达, 腹腔脂肪、肝和肾表达量显著高于肌肉和肠($P < 0.05$)。构建鲤*lpl-a*过表达质粒载体, 个体层面, 斑马鱼(*Danio rerio*)显微注射过表达鲤*lpl-a*后, 肌肉T-CHO含量较野生型增加约7倍、肝脏T-CHO和TG含量均增加约1倍, 伴随肌肉和肝脏中*lpl-a*、*ppar* γ 、*fabp* 3等脂代谢相关基因表达上调; 细胞层面, 鲤肝细胞转染*lpl-a*过表达载体72h后, 该基因表达及脂解相关基因*pnpla* 2表达显著升高。分析表明, 过表达鲤*lpl-a*导致鲤科鱼类在个体和细胞层面呈现差异化的脂质代谢调控, 即个体中肌肉储脂增强与肝脏脂质积蓄, 细胞中脂解激活与合成抑制, 为靶向该基因调控经济动物脂肪沉积提供了理论依据。

关键词: 脂蛋白脂肪酶a; 鲤科鱼类; 过表达质粒载体; 脂代谢

中图分类号: Q344⁺.1 文献标识码: A 文章编号: 1000-3207(2026)04-042607-10

doi: 10.3724/1000-3207.2025.2025.0333 CSTR: 32229.14.SSSWXB.2025.0333



随着消费升级, 食用肉的风味、口感与营养价值的综合优化是新的市场需求; 存在于肌纤维中的肌内脂肪(Intramuscular fat, IMF)含量显著影响肉类的感官品质, 高IMF可大幅提升肉类的嫩度、风味、大理石纹评分^[1], 进而提高经济附加值。著名的大西洋鲑(*Salmo salar*)^[2]因天然高IMF含量而享有高端市场溢价。鲤(*Cyprinus carpio*)作为我国重要的经济养殖鱼类, 其产量位于淡水渔业第4位^[3], 肉质提升成为鲤养殖业发展的重点。

脂蛋白脂肪酶a (*lipoprotein lipase a*, *lpl-a*)是脂蛋白脂肪酶LPL基因家族的重要成员, 参与早期脂

肪生成过程, 其编码序列长度约1587 bp, 编码的蛋白质约507个氨基酸。*lpl*参与调控机体的脂代谢过程, 涉及多种代谢通路, 包括AMPK信号通路、WNT/ β -actin信号通路等^[4], 研究发现该基因的突变导致所在通路中其上下游基因mRNA表达量呈不同程度的下调, 包括糖代谢通路和过氧化物酶体增殖物激活受体(Peroxisome proliferator-activated receptors, PPARs)通路^[5, 6]。*lpl*在机体各组织中广泛表达, 由实质细胞的粗面内质网合成蛋白质LPL, 后者通过蛋白聚糖链锚定于血管内皮表面, 经由肝素作用释放至血液中, LPL能分解脂蛋白中甘油三

收稿日期: 2025-09-25; 修订日期: 2025-11-27

基金项目: 国家自然科学基金(32072972); 国家重点研发计划(2022YFD2400102); 中央级科研院所基本业务费项目(HSY2024Q12); 国家水产种质资源平台(FGRC18537)资助 [Supported by the National Natural Science Foundation of China (32072972); The National Key R & D Program of China (2022YFD2400102); the Central Public-interest Scientific Institution Basal Research Fund, HRFRI (HSY2024Q12); the National Infrastructure of Fishery Germplasm Resource (FGRC18537)]

作者简介: 肖黄璇(2001—), 女, 硕士研究生; 研究方向为水产动物种质资源评价与分子育种研究。E-mail: address1984198642@163.com

通信作者: 郑先虎(1982—), 博士, 研究员; 研究方向为水产动物基因组与分子育种研究。E-mail: zhengxianhu@hrfri.ac.cn

酯(Triglyceride, TG)、释放游离的脂肪酸(Free fat acids, FFAs)和单酰甘油,是该生理过程的限速酶,其活性高低直接影响脂肪的积蓄程度^[7]。前期研究表明,*lpl-a*在不同IMF含量鲤的肌肉和腹腔脂肪中存在不同表达模式,其表达量与IMF含量呈正相关,而与腹腔脂肪含量无明显相关,预示该基因可能参与鲤2种体内组织中脂肪沉积的差异调控^[8]。

为探究*lpl-a*在不同鲤组织、细胞中的差异调控作用,本研究构建了鲤*lpl-a*基因过表达质粒载体,通过显微注射斑马鱼(*Danio rerio*)受精卵和转染鲤肝细胞进行基因表达调控,探究过表达*lpl-a*在个体和细胞层面对脂肪代谢的影响,了解*lpl-a*在鱼类脂肪沉积生理过程中的作用与调控功能,并为鲤科鱼类提质增效的高品质肉质分子育种提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 *lpl-a*序列结构分析及系统进化树构建

在Ensembl数据库中搜索鲤*lpl-a*序列(ENSCCRG00000005349),使用ExPasy ProtParam (<http://web.expasy.org/protparam>)分析LPL-a的理化性质;使用ExPasy ProScale (<http://web.expasy.org/protscale>)分析蛋白疏水性;使用SignalP 4.1 (<https://services.healthtech.dtu.dk/service.php?SignalP-4.1>)预测蛋白信号肽;使用SMART (<https://smart.embl.de/>)分析蛋白结构域;使用NPSA SOPMA算法(https://npsa.lyon.inserm.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=/NPSA/npsa_sopma.html)分析蛋白质的二级结构。在NCBI数据库中对鲤LPL-a序列进行BLAST,选取16个物种的相关序列绘制进化树,包括10种鲤形目、2种脂鲤目、1种海鲢目、1种鲱形目、2种哺乳纲:玫瑰高原鳅(*Triplophysa rosa*, XP_057181038.1)、多鳞白甲鱼(*Onychostoma macrolepis*, XP_05861732.3.1)、鲤(*AHN63313.1*)、鲫(*Carassius auratus*, XP_026054219.1)、黑鲫(*Carassius carassius*, XP_059425363.1)、青鱼(*Mylopharyngodon piceus*, QGZ00495.1)、鲢(*Hypophthalmichthys molitrix*, ACT22640.1)、黑头呆鱼(*Pimephales promelas*, XP_039538544.1)、斑马鱼(NP_571202.1)、泥鳅(*Misgurnus anguillicaudatus*, XP_055072759.1)、纳氏臀点脂鲤(*Pygocentrus nattereri*, XP_017548830.1)、大盖巨脂鲤(*Colossoma macropomum*, XP_036442904.1)、大海鲢(*Megalops cyprinoides*, XP_036376712.1)、美洲西鲱(*Alosa sapidissima*, XP_041912791.1)、智人(*Homo sapiens*, CAG33335.1)、小鼠(*Mus musculus*, CAJ18552.1);利用MEGA11软件使用NJ (Neighbor-joining)方法建树,进行1000次Bootstrap评估置

信度。

1.2 鲤*lpl-a*体内组织特异性表达

提取3尾鲤腹腔脂肪、肝、肾、肌肉、肠的总RNA,用PrimeScript™ FAST RT reagent Kit with gDNA Eraser (TaKaRa, RR092A)反转录成cDNA置于-20℃备用。据Ensembl数据库中鲤*lpl-a*的序列设计并合成qPCR引物(表1)。以cDNA为模板,用TB Green® Premix Ex Taq™ II (Tli RNaseH Plus) (TaKaRa, RR820A)试剂盒在ABI 7500荧光定量PCR仪进行qPCR,反应条件为95℃ 30s; 95℃ 5s, 60℃ 34s, 40个循环, 95℃ 15s, 60℃ 1min, 95℃ 15s。用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 计算方法分析各基因的相对表达量,用Graph-Pad Prism 10对数据进行单因素方差分析并制图。

1.3 过表达质粒载体构建及突变体制备

鲤*lpl-a*编码区(Coding sequence, CDS)、启动子(Promoter, Pro)及重组质粒载体(Vector)序列扩增 以Ensembl数据库中鲤*lpl-a* (ENSCCRG00000005349)的CDS序列、CDS区上游2—3 kbp的序列及质粒pDestTol2CG2-Mod含Not I 酶切位点在内的4580 bp的序列为参考序列,用NEBuilder网站(<https://nebuilder.neb.com>)设计含重叠区域的引物C-F/R、

表1 qPCR相关引物序列

Tab. 1 Primers sequence of fluorescence quantitative qPCR	
基因/序列号 Gene/Accession number	引物序列 Primer sequence (5'—3')
18S rRNA	ACGATCAGATACCGTCGTA GTTCC
NC_056609.1	CTGTCAATCCTTTCCGTGT CCG
<i>lpl-a</i>	AGACAGCTTCAACAAAGG GCATG
NC_056618.1	GCCGTGGATTCCGTACAAT GAG
脂肪酸结合蛋白3 Fatty acid-binding protein 3 (<i>fabp 3</i>)	CAGACGTTTTTGTGGCAC AT
NC_056615.1	GATGGTCGTGGGTTTGTC
脂肪酸合酶Fatty acid synthase (<i>fasn</i>)	TCAGCCATTACGTACCACT
NC_056583.1	GTAGGAACAGTGGTGCTTT TCT
过氧化物酶体增殖物激活受体 γ Peroxisome proliferators- activated receptors γ (<i>ppar γ</i>)	CCCAAGTTTGAGTTCTCCG TCA
NC_056582.1	AGTCGGGATGGTTCATCTT CA
乙酰辅酶A羧化酶α Acetyl-coa carboxylase alpha (<i>acaca</i>)	GGGAGGATCATGGGTCGT CA
NC_056601.1	CTCCAGCTCTTTACGCTCA GA
激素敏感性脂肪酶Hormone- sensitive lipase (<i>hsl</i>)	TCAAGGTGGTCCATTCTG C
NC_056590.1	CCTGAAAAACGCTCCAGTG C
脂肪甘油三酯脂肪酶Patatin- like phospholipase domain containing 2 (<i>pnpla 2</i>)	CAACTCTGAGGCCTTGTC AT
NC_056600.1	GGGTAAAGTCAAAGGTCA GGTCAG

P-F/R、V-/F/R (表 2)。所设计的引物中C-R与V-F、P-F与V-R、P-R与C-F能通过同源重组互相连接, 从而实现“无缝克隆”。

以鲤肝cDNA和DNA为模板, 分别用C-F/R和P-F/R引物使用2×Phanta Flash Master Mix (Dye Plus) (Vazyme, P520-03)试剂进行PCR扩增, 预计扩增片段大小分别为1600和2800 bp。PCR扩增体系: 2×Phanta Flash Master Mix (Dye Plus) 25 μL, F/R引物各2 μL, 模板核酸5 μL, 补ddH₂O 16 μL至50 μL。反应程序: 98℃ 30s; 98℃ 10s, 55℃ 5s, 72℃ 35s, 30个循环; 72℃ 1min。对PCR产物进行琼脂糖凝胶电泳检验有无目的条带, 并纯化目的扩增片段。

过表达质粒载体构建 用NEBuilder HiFi DNA Assembly Master Mix #E262L试剂盒按载体片段(Vector): 插入片段(CDS、Pro)摩尔比为1:2混合组装片段, 50℃ 1h随后4℃ 23h完成过表达质粒载体的连接, 转化至大肠杆菌DH5α (博迈德生物)中, 液体LB培养基37℃ 200 r/min复苏培养1h后吸取100 μL菌液涂布于含氨苄的固体LB培养基上, 37℃倒置培养12h, 观察单菌落生长状况。对单克隆菌用CDS、Pro区的上下游引物进行菌落PCR检验阳性。用Plasmid Miniprep Kit (北京庄盟国际生物基因科技有限公司, ZP101)试剂盒提取阳性菌的质粒, 置于-20℃备用。

转座酶mRNA合成 在液体LB培养基中扩增含pCS2-transposase质粒的大肠杆菌并提取质粒, 针对质粒*Not* I 位点使用FastDigest *Not* I (赛默飞,

FD0594)试剂盒进行酶切。酶切后产物加入1/20体积的0.5mol/L EDTA、1/10体积的3mol/L醋酸钠充分混匀, 再加入2倍体积的预冷无水乙醇充分混匀, -20℃放置至少15min; 4℃、12500 r/min离心15min, 回收DNA沉淀; 用预冷的500 μL 70%乙醇洗涤沉淀, 4℃、12500 r/min离心15min, 回收DNA沉淀, 室温静置晾干10min; 随后用适量无酶水浸泡、重悬沉淀, 并测定线性化的质粒DNA浓度。用mMES-SAGE mMACHINE™ SP6 (赛默飞, AM1340)试剂盒对线性化的质粒DNA进行体外转录, 用RNeasy® Mini Kit (QIAGEN GmbH, 74104)回收mRNA, 即得到转座酶mRNA, 置于-80℃备用。

显微注射斑马鱼受精卵 将*lpl-a*过表达质粒载体与转座酶mRNA 1:1混合后(质粒终浓度为250 ng/μL)注射入 I 细胞期的斑马鱼受精卵, 以不含过表达质粒载体和转座酶mRNA的0.02% 酚红溶液(10 mmol/L Tris-HCl pH 8.0)注射入 I 细胞期的斑马鱼受精卵为对照, 注射约1500颗受精卵。

鲤肝细胞复苏培养与转染 肝细胞系由中国水产科学研究院黑龙江水产研究所淡水鱼类育种国家地方联合工程实验室保存^[9]。取出冻存细胞迅速放入37℃水浴锅不断晃动至融化, 转入含15%胎牛血清的DMEM/F12完全培养基的离心管内, 1300 r/min离心5min, 弃上清, 再加DMEM/F12完全培养基重悬细胞至预先包被的T25培养瓶内, 晃匀后置于5% CO₂、28℃培养箱内培养, 16h后换液。待细胞培养至80%的融合度后, 进行传代。

细胞传至12孔板中, 待细胞处于对数生长期、细胞数量达到6×10⁵时, 进行转染, 以转染含*eGFP*的质粒为阴性对照(Negative control, NC)组, 以转染*lpl-a*过表达质粒为实验组。配置A液: 50 μL的opti-MEM培养基(Gibco, 3115112)中添加0.5 μg的质粒, 混匀, 加入P3000™ Reagent (ThermoFisher SCIEN-TIFIC, 货号L3000150), 得到DNA-脂质复合体。配制B液: 50 的opti-MEM培养基中添加3.0 μL的Lipofectamine™ 3000转染试剂, 室温静置5min。将A液加入B液中, 混匀, 室温孵育20min。将A、B混合液加入至细胞中, 28℃培养24h后更换为无青霉素-链霉素-两性霉素混合液的含15%胎牛血清的DMEM/F12完全培养基, 继续培养48h后镜检观察细胞生长状态。

1.4 显微注射斑马鱼过表达阳性检验

针对*lpl-a*过表达质粒载体的跨CDS和Pro区片段设计检测引物X-F/R (表 2)。孵化饲养注射后的斑马鱼受精卵, 待2月龄时, 采集存活的68尾斑马鱼的鳍条DNA, 用检验引物进行PCR, 琼脂糖凝胶电

表 2 扩增鲤*lpl-a*的相关引物序列

Tab. 2 Primers sequence of amplifying carp *lpl-a*

引物 Primer	引物序列 Primer sequence (5'—3')	目的片段大小 Target fragment size (bp)	用途 Usage
V-F	TCTCGAGCCTCTA	4580	扩增载体
V-R	GAACCTATAG AGATCTGCGAAG ATACGG		
C-F	tcacatacagTTCGATT	1600	扩增、检验 CDS区
C-R	GAACCAGCGAG atagtcttagaggctcgaga GTGAAGGTTACT AGTCTGAATATTC		
P-F	ggccgtatcttcgcagatctA	2800	扩增、检验 Pro区
P-R	GCACCGGTGTC TTCTAC ttcaatcgaaCTGTATG TGAGCGCTTTG		
X-F	CCTGCCAAATGAC	953	检验显微注 射结果
X-R	AAGTCCC GGCTGTGACCTCC AGAA		

注: 小写字母为重叠区域序列, 大写字母为扩增区域特异引物序列

Note: Lowercase and uppercase letters represent overlapping region sequences and specific primers sequences, respectively

泳分离PCR产物并观察条带结果,筛选出有目标大小片段的显微注射阳性的斑马鱼,继续饲养用于后续实验。

1.5 过表达阳性斑马鱼鱼体脂质指标检测

待显微注射阳性斑马鱼生长至3月龄时,分别取5尾野生型对照和阳性斑马鱼的肝脏和肌肉,用试剂盒测定总胆固醇T-CHO(南京建成生物工程研究所, A111-1-1)和甘油三酯TG(南京建成生物工程研究所, A110-1-1)含量。用GraphPad Prism 10对数据进行 t 检验分析并制图。

1.6 脂肪代谢标志基因定量分析

据Ensembl数据库中鲤脂肪代谢标志基因设计并合成荧光定量qPCR引物,以鲤18S为内参基因(表2)。分别提取5尾野生型对照和阳性斑马鱼的肝脏和肌肉的总RNA并反转录得到相应cDNA,用于检测*lpl-a*及相关脂代谢的基因*fabp 3*、*fasn*、*acaca*和*ppar γ*相对表达量。分别提取未转染和转染后72h的鲤肝细胞总RNA,反转录得到相应cDNA,用于检测*lpl-a*、*fabp 3*、*fasn*、*ppar γ*、*acaca*、*hsl*和*pnpla 2*的相对表达量。用GraphPad Prism 10对数据进行单因素方差分析并制图(方法同1.2)。

2 结果

2.1 *lpl-a*序列结构分析与系统进化树

鲤*lpl-a*位于SPL01 B22号染色体上(ASM18 34038v1, 21882766:21887119), DNA序列全长4354 bp (NC_056618.1), mRNA(XM_019064371.2) 2413 bp。其中CDS区1524 bp, 预测的开放阅读框(Opening reading frame, ORF)7个; 编码的蛋白质(XP_0189 19916.2)含507个氨基酸, 理论等电点(Isoelectric point, pI) 8.54, 蛋白质分子量约57.64 kD; 正电荷氨基酸残基(Arg + Lys) 59个, 负电荷氨基酸残基(Asp + Glu) 54个; 不稳定系数45.86, 说明LPL-a是不稳定

蛋白质; 脂质系数(Instability index)77.08; 总平均疏水指数(Grand average of hydropathicity) -0.354, 蛋白质呈亲水性; 预测在1—23氨基酸处有1个信号肽结构。

LPL-a有2个主要的结构域(图1A): Lipase脂蛋白酶家族结构域位于21—353氨基酸处, LH2 (Lipoxygenase homology 2)结构域位于356—480氨基酸处, 在48—488氨基酸处为脂蛋白脂肪酶超级家族的保守结构域。用SOPMA算法进行蛋白质二级结构分析(图1B), α 螺旋(Alpha helix) 108个占21.3%, 延伸链(Extended strand) 107个占21.1%, 无规则卷曲(Ambiguous states) 292个占57.59%, 鲤LPL-a的二级结构以无规则卷曲为主。

鲤LPL-a与其他14种硬骨鱼和2种哺乳动物的LPL氨基酸序列的系统进化树主要分为硬骨鱼纲和哺乳纲两大分支(图2), 鲤LPL-a与另一种蛋白亚型LPL-1b进化关系最近, 次之为鲤形目鲤科鲫属的相应蛋白, 与模式生物鲤科鲮属的斑马鱼的进化关系也较近。

2.2 鲤不同体内组织中*lpl-a*的相对表达量

*lpl-a*在检测的5种体内组织中均有表达(图3), 以腹腔脂肪为对照组表达量由高到低依次为腹腔脂肪、肝、肾、肌肉、肠。腹腔脂肪和肝中表达量显著高于肌肉和肠($P < 0.05$), 肝和肾中表达量相近($P > 0.05$)。

2.3 *lpl-a*过表达质粒载体和显微注射斑马鱼阳性的鉴定

对45个单克隆菌进行菌落PCR, PCR产物用琼脂糖凝胶电泳检测分离, 可见大小约2800 bp的Pro序列条带和约1600 bp的CDS序列条带, 与预期大小相符(图4A); 共鉴定出4个阳性单克隆菌。阳性菌质粒的CDS区测序结果与Ensembl数据库中鲤*lpl-a* (ENSCCRG00000005349)的已知转录序列进行比

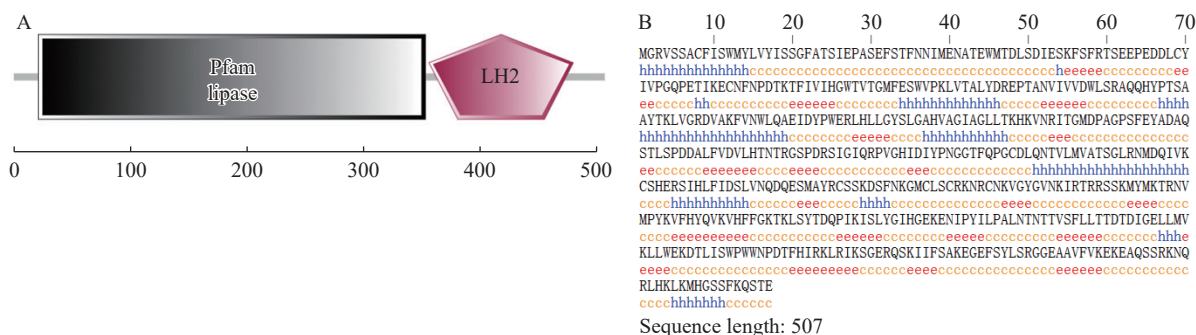


图1 Lpl-a蛋白质生物信息学分析

Fig. 1 Bioinformatics analysis of LPL-a protein

A. Lpl-a蛋白质结构域示意; B. SOPMA算法预测鲤Lpl-a蛋白质二级结构

A. Schematic diagram of Lpl-a protein domain; B. The secondary structure of common carp LPL-a protein predicted by SOPMA algorithm

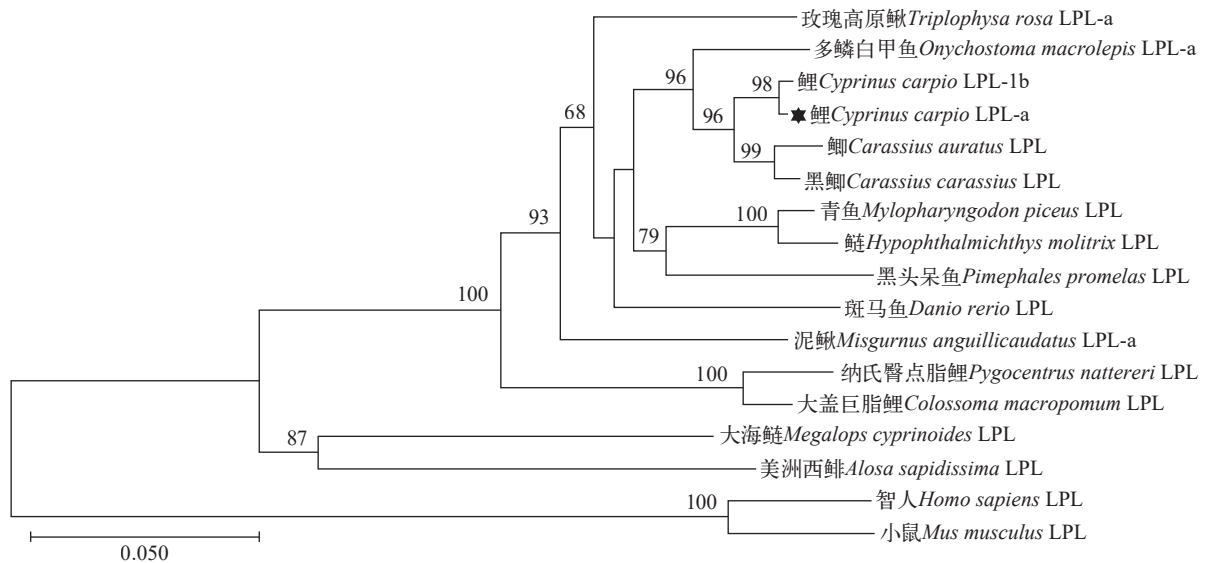
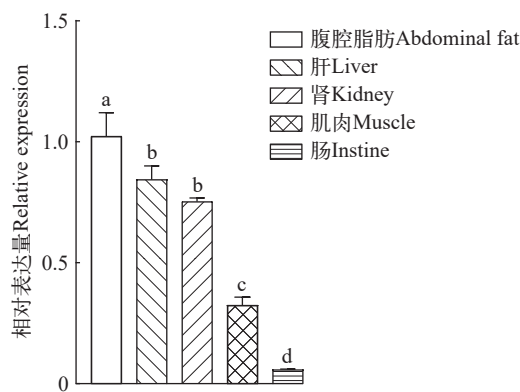


图2 LPL氨基酸序列的系统进化树

Fig. 2 The phylogenetic tree of LPL amino acid sequence

进化树节点数值表 1000次自展评估的置信度, 自展值低于70不予展示; 带星号标识的物种序列为本文研究对象

Numbers at nodes are bootstrap confidence values from 1000 replicates; values below 70 are not shown. The species sequence marked with star is determined in this work

图3 鲤不同体内组织 *lpl-a* 相对表达量Fig. 3 The relative expression of *lpl-a* in different tissues of common carp

含相同小写字母表示体内组织间无显著差异含 ($P>0.05$); 以腹腔脂肪为对照组

Internal tissues with the same lowercase letter represent no significant difference ($P>0.05$); Using abdominal fat as the control group

对, 二者相似度96.06%, 说明构建的过表达质粒载体成功包含 *lpl-a* 的表达序列。提取68尾显微注射斑马鱼的DNA检验注射结果, 以出现目标大小条带为过表达 *lpl-a* 阳性结果的判断标准(图4B), 共筛选出16尾阳性鱼。

2.4 阳性斑马鱼组织中T-CHO、TG含量

斑马鱼过表达 *lpl-a* 后肌肉中T-CHO含量较野生型对照显著增加($P<0.0001$)约7倍; 肝脏中T-CHO、TG含量也显著增加1倍有余($P<0.0001$; 图5)。

2.5 阳性斑马鱼组织中脂肪代谢标志基因表达量变化

过表达 *lpl-a* 后斑马鱼肝脏和肌肉中该基因与 *ppar* γ 表达量显著上升($P<0.05$), 脂肪酸转运相关基因 *fabp* 3和脂肪合成相关基因 *fasn* 在2种组织中的表达量均增加; 而 *acaca* 则在肝脏中表达减少、在肌肉中表达增加(图6)。

2.6 *lpl-a* 过表达质粒载体转染鲤肝细胞对脂肪代谢标志基因表达量的影响

转染肝细胞72h后 *lpl-a* 表达量显著高于NC组 ($P<0.0001$)、*acaca* 则显著低于NC组 ($P<0.0001$), 过表达 *lpl-a* 对上游基因 *ppar* γ 的表达量无显著影响 ($P>0.05$; 图7)。

3 讨论

3.1 *lpl-a* 基因序列结构与脂代谢生理功能

lpl-a 是脂肪代谢的核心功能基因, 参与机体脂肪的储存与分解, 本研究分析了鲤 *lpl-a* 的结构特征和生理功能, 并对其进行过表达以探讨对脂肪的调控机制。鲤作为经历第三轮(硬骨鱼共有)和第四轮(特有)全基因组复制的物种^[10, 11], 存在2种 *lpl* 基因亚型 *lpl-a* 与 *lpl-b* 可能源于基因组多拷贝事件——该现象在草鱼 (*Ctenopharyngodon idella*)、罗非鱼 (*Oreochromis mossambicus*)、斑马鱼 (*Danio rerio*) 等其他鱼类中亦有报道^[12, 13]。吕伟华^[5]通过系统进化分析显示, 鲤LPL-a和LPL-1b氨基酸同源性达95%, 本研

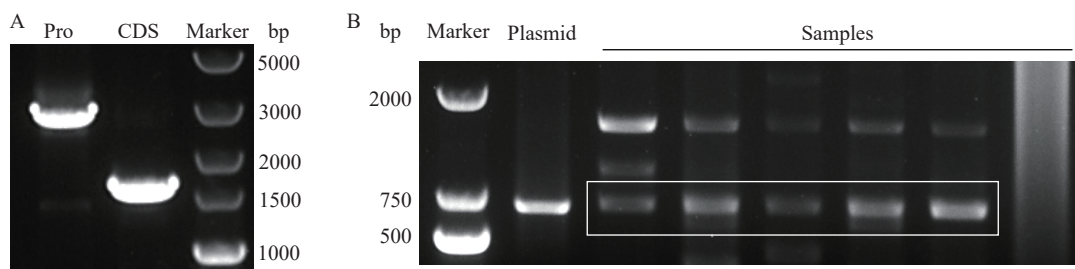


图4 相关PCR产物琼脂糖凝胶电泳图

Fig. 4 Agarose gel electrophoresis of related PCR products

A. 单克隆菌CDS、Pro区扩增验证凝胶电泳图; B. 显微注射过表达质粒斑马鱼阳性个体示意方框表示样本中的6个阳性个体出现的对应大小目标条带, 右侧第7个样本为阴性个体

A. Agar plot for CDS and Pro zone amplification validation of monoclonal bacteria; B. Schematic diagram of zebrafish microinjected with overexpression plasmid positive individuals; The box represents the corresponding size target band of 6 positive individuals in the samples, and the 7th sample on the right is a negative individual

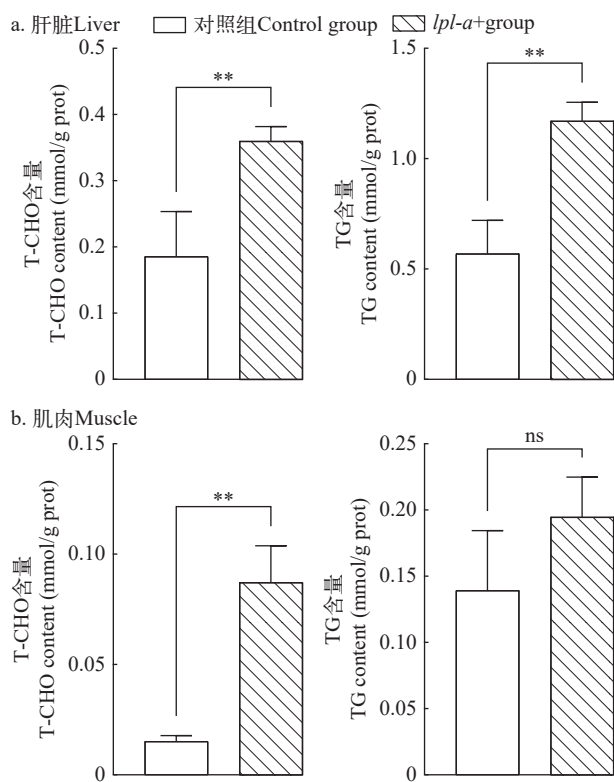


图5 不同基因型斑马鱼肝脏、肌肉T-CHO、TG含量

Fig. 5 T-CHO and TG content in livers and muscles of zebrafishes with different genotypes

ns表示 $P>0.05$ 差异不显著, $*P<0.05$ 表示差异显著, $**P<0.01$ 表示差异极显著

NS means no significant difference with $P>0.05$, $*P<0.05$ means significant difference, $**P<0.01$ means extremely significant difference

究构建的系统进化树进一步证实两者同属一个高置信度进化分支; 但不同鱼类亚型间亲缘关系存在差异: 如大口黑鲈(*Micropterus salmoides*)(43.5%)^[13]与马苏大麻哈鱼(*Oncorhynchus clarkii*)(31%)的亚

型同源性较低且不与鲤聚类。鱼类*lpl*整体保守性较高^[12], 鲤与近缘鲤科鱼类(如鲫)进化关系最近, 与鲤科其他属的鱼类间也保持较紧密的进化关系, 而与鲈形目等远缘物种(同源性约70%)^[13, 14]较远, 提示*lpl*在鱼类中虽保留核心功能, 但不同谱系间存在适应性分化。

3.2 *lpl-a*生理功能及组织表达特异性

LPL-a作为糖蛋白, 包含N-糖基化位点、脂质结合区域和肝素结合域等关键功能结构域^[13], 这些结构域涉及糖蛋白的释放与激活。亚细胞定位显示LPL-a主要分布于内质网和线粒体基质, 其被合成后分泌并转移至血管腔中^[12], 经肝素作用后释放入血液, LPL-a受载脂蛋白C II激活后^[12], 水解血浆中乳糜微粒(Chylomicron, CM)和极低密度脂蛋白(Very low density lipoprotein, VLDL)中的TG生成甘油和FFA^[15]。FFA随血液循环至需要能量的组织, 被转运蛋白(人类白细胞分化抗原36、脂肪酸转运蛋白等)摄取并进入细胞成为脂肪酸, 后者既可能被脂酰辅酶A合成酶活化以进行 β -氧化供能, 亦可酯化为中性脂质重新储存于脂肪^[12]。*lpl*参与PPARs信号通路, 主要涉及脂肪酸转运和脂质代谢, 其被认为是决定脂肪酸向何种组织转移的关键基因^[16]。*lpl*活性受组织特异性调控^[17], 主要在脂肪组织中表达, 但在不同物种存在差异, 如湖羊(*Ovis aries*)的尾脂和皮下脂肪中*lpl*表达量大于心、肝和背最长肌^[18]; 成年牦牛(*Bos grunniens*)的*lpl*表达量心>脂肪组织>背最长肌^[19]。其表达能依据能量需求以组织特异性的方式在多水平上进行调节^[15], 在小鼠中缺乏FFA和TG导致脂肪组织和肌肉中*Lpl*表达量上升^[20]。本研究中鲤的*lpl*表达量呈现出显著的组织差异: 腹腔脂肪中表达量最高, 其次是肝和肾, 肌肉与肠相对较低。脂肪是鱼类的第一能量来源^[21],

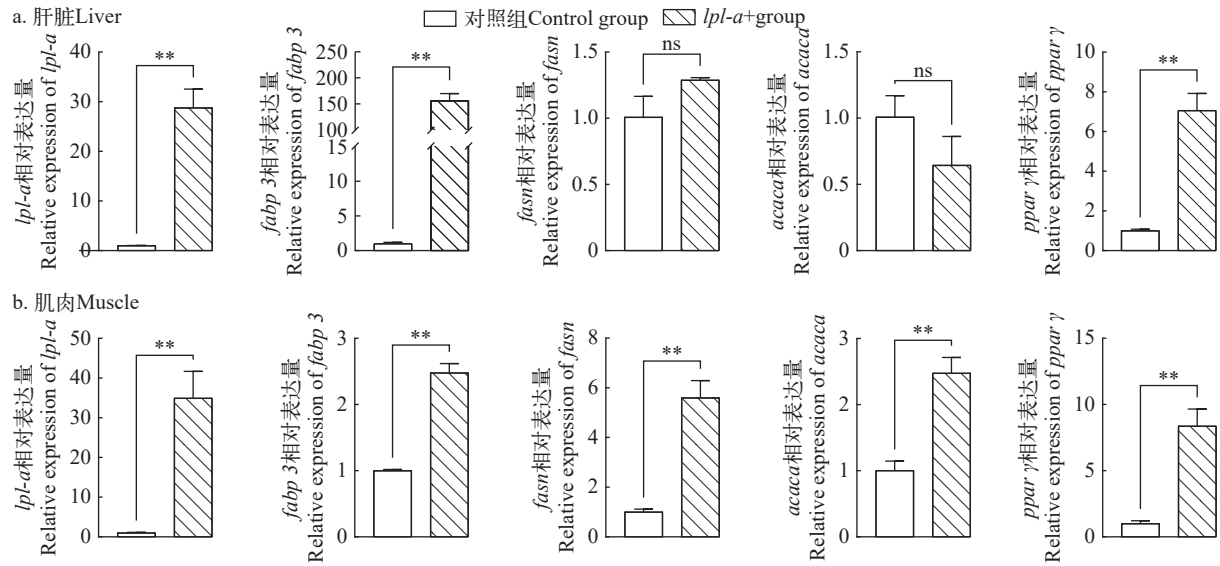
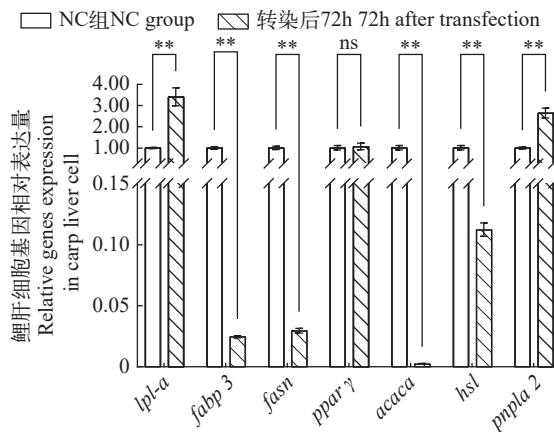


图6 不同基因型斑马鱼肝脏、肌肉中脂肪代谢标志基因相对表达量

Fig. 6 Relative expression of fat metabolism marker genes in liver and muscle of zebrafishes with different genotypes

ns表示 $P > 0.05$ 差异不显著, * $P < 0.05$ 表示差异显著, ** $P < 0.01$ 表示差异极显著NS means no significant difference with $P > 0.05$, * $P < 0.05$ means significant difference, ** $P < 0.01$ means extremely significant difference图7 鲤肝细胞转染*lpl-a*过表达质粒对相关脂肪代谢标志基因相对表达量影响Fig. 7 The effect of transfection *lpl-a* overexpression plasmid into common carp liver cells on the relative expression of relevant lipid metabolism marker genesns表示 $P > 0.05$ 差异不显著, * $P < 0.05$ 表示差异显著, ** $P < 0.01$ 表示差异极显著ns means no significant difference with $P > 0.05$, * $P < 0.05$ means significant difference, ** $P < 0.01$ means extremely significant difference

*lpl*在鲤储脂的脂肪组织中相对表达量最大, 这种“脂肪>肝>肌肉”的分级表达模式与刀鲚(*Coilia nasus*)^[22]、建鲤(*Cyprinus carpio* var. Jian)^[23]、彭泽鲫(*Carassius auratus* var. Pengze)^[24]、草鱼^[25]等鱼类高度一致, 但不同于达氏鲟(*Acipenser dabryanus*)^[26]、花鲈(*Lateolabrax maculatus*)^[27]等鱼类中肌肉或肝组织中表达量最高。硬骨鱼中多样的*lpl*组织特异

性表达模式表明, 不同鱼类对来源不同组织的FFA供能需求存在差异, 研究*lpl*对探究鲤脂肪沉积有重要作用。

此外, 肉食动物(如牛、羊、鱼等)的IMF含量不同导致肉质的感官品质差异, 其含量亦展示出与*lpl*表达量一定程度的正相关, 肉食性鱼IMF含量高, 肉质脂香滑腻, 如选育的不同肌肉脂肪含量的虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)品系中, 高脂品系肌肉*lpl-a*表达量显著高于低脂品系($P < 0.001$)^[28], 改善风味; 草食性鱼类脂肪主要储存于内脏如肝脏、肠系膜, IMF含量较少, 肉质更紧实, 一项对草鱼开展的研究发现高脂饲喂条件下肌肉中*lpl*表达量降低, 腹腔脂肪沉积明显^[29]。特别值得注意的是, 硬骨鱼类(包括鲤)性成熟个体肝中*lpl*保持高表达^[22], 而哺乳动物如大鼠(*Rattus norvegicus*)和小鼠^[30]仅在胚胎期和新生期的肝中检测到*lpl*表达活跃——这种差异可能反映鱼类在其主要能量代谢形式, 即脂质代谢中将LPL作为长期调控核心酶的适应性策略^[22], 而高等脊椎动物则经过演化用肝脂肪酶(Hepatic lipase, HL)补偿缺少LPL时期的部分功能^[26, 31]。总之, *lpl-a*的高表达可能对调控腹腔和肌肉脂肪的沉积有重要影响。

3.3 *lpl-a*过表达对脂代谢的影响

本研究基于扩增的鲤*lpl-a*序列(其CDS区序列与Ensembl数据库同源序列相似性达96.06%)与载体pDestTol2CG2-Mod部分序列, 通过同源重组构建9380 bp的过表达重组质粒(含Tol2转座子系统,

支持斑马鱼等多种模式生物转座^[32]), 经显微注射转座酶mRNA与质粒至斑马鱼受精卵, 成功建立*lpl-a*过表达模型。模型显示: 肌肉*lpl-a*表达显著上调($P<0.0001$), 脂合成关键基因*acaca*、*fasn*和*ppar* γ 同步高表达($P<0.0001$), 与高脂饲喂大鼠肌肉中同类基因变化趋势一致^[33]; 但能量感应腺苷酸活化蛋白激酶(Adenosine 5'-monophosphate-activated protein kinase, AMPK)通路中的*fabp* 3增幅较小, 肌组织尤其是骨骼肌中以脂肪酸的氧化供能为主^[34]而非脂质的储存, 结合大量FFAs随过表达的*lpl-a*产生并涌入肌细胞的背景, 推测模型中肌细胞对脂肪 β -氧化作用未占主导状态, 而是脂肪的合成代谢(FFAs的酯化储存)更活跃——肌肉T-CHO含量显著升高($P<0.0001$)。肝脏则呈现差异: *fasn*无显著变化($P>0.05$)、*acaca*表达下调, 与高脂饲喂斑马鱼仔鱼^[35]及鲤^[36]的肝脏基因响应不同; 但肝脏TG含量显著积累($P<0.0001$), 肝脏是腹腔脂肪沉积的首要部位, 可能因*ppar* γ 诱导*fabp* 3促进FFAs向脂滴转运, 同时高FFAs通过AMPK通路抑制了*acaca*活性以应对肝脏中的脂质超载。关键发现是*lpl-a*过表达导致斑马鱼肌肉和肝脏的代谢分化: 肌肉通过增强循环FFAs的摄取与酯化储存(虽部分氧化供能), 同时在HL的联合调节作用下^[7]表现为肌肉中TG变化不显著($P>0.05$)而T-CHO升高7倍($P<0.0001$), 肝脏T-CHO升高1倍, 共同驱动肌肉与腹腔脂肪的差异沉积, 与前期不同IMF含量鲤的*lpl-a*体内组织差异表达结果相近^[8], 证实该基因调控脂肪在体内组织特异性沉积的功能。这一调控作用在其他经济动物中亦有体现, 如新疆犏牛嫩肉(牛霖) *lpl-a*表达显著高于腱子肉等低IMF部位($P<0.01$)^[37], 云南保山猪背脂*lpl-a*表达量极显著高于背最长肌和肝脏($P<0.01$)^[38], 均指向其与组织脂肪差异的关联。

进一步在细胞层面探究机制, 将鲤*lpl-a*过表达质粒转染鲤肝细胞后, 观察到与个体组织响应截然不同的变化: 脂合成关键基因*fasn*、*acaca*及转运因子*fabp* 3表达显著降低($P<0.0001$), 脂解因子*pnpla* 2显著上调($P<0.0001$)。这一结果提示, 过表达*lpl-a*可能加剧肝细胞内TG水解, 导致FFA积蓄并引发脂毒性应激, 进而通过代偿性激活*pnpla* 2触发防御性脂解^[39], 同时抑制肝细胞内脂肪酸合成与转运。值得注意的是, *lpl-a*上游调控基因*ppar* γ 表达量未见显著变化($P>0.05$)。这些差异说明过表达*lpl-a*后对个体水平与细胞水平的脂肪沉积方式改变的影响不同。

4 展望

LPL是调控甘油三酯代谢途径的核心之一,

在本研究中发现, 斑马鱼过表达*lpl-a*导致脂肪沉积变化——IMF含量增加, 而肝脏因脂质超载出现TG蓄积。脂质合成代谢增强与定向沉积是IMF积累的关键因素^[40], *lpl-a*作为具有组织特异性调控功能的候选基因, 在提质增优育种中发展潜力显著。未来或可通过肌肉靶向编辑*lpl*及其下游通路, 培育高IMF低内脏脂质的优质品系; 或基于模式生物研究, 向鲤、罗非鱼等经济鱼种推广基因编辑技术, 加速从机制解析到产业应用的转化, 推动水产养殖向高效、优质、绿色方向升级。

(作者声明本文符合出版伦理要求)

参考文献:

- [1] Zhang X, Liu C, Kong Y, et al. Effects of intramuscular fat on meat quality and its regulation mechanism in Tan sheep [J]. *Frontiers in Nutrition*, 2022(9): 908355.
- [2] Zhang D F, Wu L, Zhang X Z, et al. Nutrient components and texture profiles in the flesh of Atlantic salmon, triploid rainbow trout, and golden trout [J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2020, 27(2): 186-194. [张殿福, 吴雷, 张学振, 等. 大西洋鲑、三倍体虹鳟和金鳟的肌肉营养成分与品质特性 [J]. 中国水产科学, 2020, 27(2): 186-194.]
- [3] The Bureau of Fisheries and Fishery Administration, the Ministry of Agriculture. 2025 China fishery statistical yearbook [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2025: 24-25. [农业农村部渔业渔政管理局, 全国水产技术推广总站, 中国水产学会编制. 中国渔业统计年鉴-2025 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2025: 24-25.]
- [4] Wang H N, Qi Z, Li X L, et al. Nutritional regulation and molecular mechanism of intramuscular fat deposition [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2020, 32(7): 2947-2958. [王寒凝, 祁智, 李雪玲, 等. 肌内脂肪沉积的营养调控与分子机制 [J]. 动物营养学报, 2020, 32(7): 2947-2958.]
- [5] Lü W H. The mining and functional study of muscle fat trait-related genes in common carp [D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2017: 40-41, 69-70. [吕伟华. 鲤鱼肌肉脂肪性状相关基因筛选及功能研究 [D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2017: 40-41, 69-70.]
- [6] Zhou J, Liu T Q, Sun Z P, et al. Sequence characteristics and correlation with lipid deposition of *PPAR* γ gene in common carp *Cyprinus carpio* [J]. *Chinese Journal of Fisheries*, 2024, 37(2): 18-25. [周佳, 刘天奇, 孙志鹏, 等. 鲤*PPAR* γ 基因序列特征及其与脂肪沉积的相关性 [J]. 水产学杂志, 2024, 37(2): 18-25.]
- [7] Young S G, Fong L G, Beigneux A P, et al. GPIHBP1 and lipoprotein lipase, partners in plasma triglyceride metabolism [J]. *Cell Metabolism*, 2019, 30(1): 51-65.
- [8] Zhang K, Liu T, Sun Z, et al. Investigating transcriptomics and metabolomics differences offers insights into the mechanisms of muscular fat deposition in common carp (*Cyprinus carpio*) [J]. *Food Bioscience*, 2024(62):

- 105082.
- [9] 刘天奇, 郑先虎, 鲁翠云, 等. 一种鲤鱼肝脏细胞系的构建及诱导成脂的方法: CN118813523A [P]. 2024-10-22.
- [10] Conant G C. The lasting after-effects of an ancient polyploidy on the genomes of teleosts [J]. *PLoS One*, 2020, **15**(4): e0231356.
- [11] Xu P, Xu J, Liu G, *et al.* The allotetraploid origin and asymmetrical genome evolution of the common carp *Cyprinus carpio* [J]. *Nature Communications*, 2019(10): 4625.
- [12] Wang Y J. Acquisition of prokaryotic proteins and comparison of enzyme activities of three kinds of lipoproteins in lipase in *Cyprinus carpio* [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2022: 11-15. [王钰婧. 三种鲤脂蛋白脂肪酶原核重组蛋白的获得及酶活力比较 [D]. 南京: 南京农业大学, 2022.]
- [13] Zhu Z M, Ma D M, Bai J J, *et al.* Cloning and expression analysis of two cDNAs encoding lipoprotein lipase of *Micropterus salmoides* [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2013, **37**(5): 641-650. [朱择敏, 马冬梅, 白俊杰, 等. 大口黑鲈两种脂蛋白脂肪酶基因cDNA的克隆及表达特征分析 [J]. *水产学报*, 2013, **37**(5): 641-650.]
- [14] Qiu J Z, Tang H Q, Song H X, *et al.* Cloning and expression analysis of p65 gene in *Micropterus salmoides* [J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2024, **52**(16): 91-95, 100. [丘金珠, 唐怀庆, 宋海霞, 等. 加州鲈p65基因克隆及表达分析 [J]. *安徽农业科学*, 2024, **52**(16): 91-95, 100.]
- [15] Li Y, He P P, Zhang D W, *et al.* Lipoprotein lipase: From gene to atherosclerosis [J]. *Atherosclerosis*, 2014, **237**(2): 597-608.
- [16] Zhang H Z, Chen D W, He J, *et al.* Long-term dietary resveratrol supplementation decreased serum lipids levels, improved intramuscular fat content, and changed the expression of several lipid metabolism-related miRNAs and genes in growing-finishing pigs [J]. *Journal of Animal Science*, 2019, **97**(4): 1745-1756.
- [17] Shimizu K, Nishimura S, Fukumura Y, *et al.* Liver-specific overexpression of lipoprotein lipase improves glucose metabolism in high-fat diet-fed mice [J]. *PLoS One*, 2022, **17**(9): e0274297.
- [18] Kong Y, Jiang B, Li F, *et al.* Association of the *LPL* gene polymorphisms with fatty acid composition in the longissimus dorsi muscle of Hu sheep [J]. *Small Ruminant Research*, 2024(237): 107319.
- [19] Ding Y, Xu Y, Lin Y, *et al.* Cloning and expression profiles of yak lipoprotein lipase gene [J]. *Journal of Applied Animal Research*, 2012, **40**(4): 311-315.
- [20] Haemmerle G, Zimmermann R, Strauss J G, *et al.* Hormone-sensitive lipase deficiency in mice changes the plasma lipid profile by affecting the tissue-specific expression pattern of lipoprotein lipase in adipose tissue and muscle [J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2002, **277**(15): 12946-12952.
- [21] Song Z D, Zang L M, Wang J Y, *et al.* Lipid transport in fish [J]. *Feed Research*, 2008, **31**(11): 13-15. [宋志东, 张利民, 王际英, 等. 鱼体的脂类运输 [J]. *饲料研究*, 2008, **31**(11): 13-15.]
- [22] Wang M, Xu D, Liu K, *et al.* Molecular cloning and expression analysis on *LPL* of *Coilia nasus* [J]. *Gene*, 2016, **583**(2): 147-159.
- [23] Cheng H L, Sun S P, Peng Y X, *et al.* cDNA sequence and tissues expression analysis of lipoprotein lipase from common carp (*Cyprinus carpio* var. Jian) [J]. *Molecular Biology Reports*, 2010, **37**(6): 2665-2673.
- [24] Cheng H L, Wang X, Peng Y X, *et al.* Molecular cloning and tissue distribution of lipoprotein lipase full-length cDNA from Pengze crucian carp (*Carassius auratus* var. Pengze) [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 2009, **153**(1): 109-115.
- [25] Cheng H L, Meng X P, Sun S P, *et al.* Cloning and expression analysis of a cDNA encoding lipoprotein lipase from the liver of adult grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) [J]. *Aquaculture Research*, 2009, **40**(16): 1838-1848.
- [26] Chen Y, Wu X, Lai J, *et al.* Characterization of two lipid metabolism-associated genes and their expression profiles under different feeding conditions in *Acipenser dabryanus* [J]. *Aquaculture Reports*, 2021(21): 100780.
- [27] Huang H, Zhang Y, Cao M, *et al.* Effects of fasting on the activities and mRNA expression levels of lipoprotein lipase (LPL), hormone-sensitive lipase (HSL) and fatty acid synthetase (FAS) in spotted seabass *Lateolabrax maculatus* [J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2018, **44**(1): 387-400.
- [28] Lutfi E, Gong N, Johansson M, *et al.* Breeding selection of rainbow trout for high or low muscle adiposity differentially affects lipogenic capacity and lipid mobilization strategies to cope with food deprivation [J]. *Aquaculture*, 2018(495): 161-171.
- [29] Shi Y, Zhong L, Liu Y, *et al.* Dietary sanguinarine supplementation recovers the decrease in muscle quality and nutrient composition induced by high-fat diets of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) [J]. *Animal Nutrition*, 2024(17): 208-219.
- [30] Wang H, Eckel R H. Lipoprotein lipase: from gene to obesity [J]. *American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism*, 2009, **297**(2): E271-E288.
- [31] Feng D, Huang Q Y, Liu K, *et al.* Comparative studies of zebrafish *Danio rerio* lipoprotein lipase (*lpl*) and hepatic lipase (*lipc*) genes belonging to the lipase gene family: evolution and expression pattern [J]. *Journal of Fish Biology*, 2014, **85**(2): 329-342.
- [32] Tao R, Chang Y M, Li S G, *et al.* Characteristics and application of Tol2 transposon in transgenic fish [J]. *Chinese Journal of Fisheries*, 2014, **27**(1): 60-64. [陶然, 常玉梅, 李世国, 等. Tol2转座子的特性及其在转基因鱼类中的应用 [J]. *水产学杂志*, 2014, **27**(1): 60-64.]
- [33] Ren L P, Chen S C, Song G Y, *et al.* Influence of high-fat feeding and high-fructose feeding on the gene expressions of lipid-metabolism-related enzymes in skeletal

- muscles of rats [J]. *Chinese General Practice*, 2012, **15**(6): 654-657. [任路平, 陈树春, 宋光耀, 等. 高脂与高果糖喂养大鼠对骨骼肌脂代谢相关蛋白基因表达的影响 [J]. 中国全科医学, 2012, **15**(6): 654-657.]
- [34] Ouyang Q, Chen Q, Ke S, *et al.* Rab8a as a mitochondrial receptor for lipid droplets in skeletal muscle [J]. *Developmental Cell*, 2023, **58**(4): 289-305.
- [35] Du Y L, Li H H, Wang J H, *et al.* Effect of a high-fat diet on lipid metabolism and *KLF15-TWIST2* signaling pathway gene expression levels in zebrafish (*Danio rerio*) [J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2024, **31**(9): 1079-1089. [杜雨凌, 李虹辉, 王家辉, 等. 高脂饲料对斑马鱼脂代谢及KLF15-TWIST2信号通路表达的影响 [J]. 中国水产科学, 2024, **31**(9): 1079-1089.]
- [36] Wu D, Li J, Fan Z, *et al.* Dietary *Lycium barbarum* polysaccharide modulates growth performance, antioxidant capacity, and lipid metabolism in common carp (*Cyprinus carpio*) fed with high-fat diet [J]. *Antioxidants*, 2024, **13**(5): 540.
- [37] Zhang M, Li T, Liu J M, *et al.* Differential expression of genes related to fat metabolism in different muscle tissues of Xinjiang brown cattle [J]. *Contemporary Animal Husbandry*, 2024(11): 48-51. [张梅, 李涛, 刘建明, 等. 新疆褐牛不同肌肉组织脂肪代谢相关基因表达差异分析 [J]. 当代畜牧, 2024(11): 48-51.]
- [38] Li W J, Cheng N, Gong S R, *et al.* Correlation analysis between LPL gene expression and growth and carcass performance in Baoshan pigs [J]. *Chinese Journal of Animal Science*, 2022, **58**(8): 205-209. [李文君, 程娜, 龚绍荣, 等. 保山猪LPL基因表达量与生长及胴体性能的关联分析 [J]. 中国畜牧杂志, 2022, **58**(8): 205-209.]
- [39] 魏建翔, 梅佳顺, 刘阳, 等. 脂肪组织脂解: 分子调节和代谢疾病的影响 [C]//2018年中国生理学会运动生理学专业委员会会议暨“科技创新与运动生理学”学术研讨会论文集. 新乡, 2018: 290-291.
- [40] Huang Q K, Lin Z Z, Liu Y P, *et al.* Research progress on the factors affecting intramuscular fat deposition in poultry [J]. *China Poultry*, 2025, **47**(9): 102-110. [黄钦柯, 林中珍, 刘益平, 等. 家禽肌内脂肪沉积影响因素的研究进展 [J]. 中国家禽, 2025, **47**(9): 102-110.]

THE SEQUENCE CHARACTERISTICS OF *LPL-A* IN COMMON CARP (*CYPRINUS CARPIO*) AND THE EFFECTS OF ITS OVEREXPRESSION ON FAT DEPOSITION

XIAO Huang-Xuan^{1,2}, LIU Tian-Qi², LU Cui-Yun², SUN Zhi-Peng², ZHANG Ke-Xin²,
REN Shu-Le², NA Rong-Bin² and ZHENG Xian-Hu^{1,2}

(1. College of Fish and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. National and Local Joint Engineering Laboratory of Freshwater Fish Breeding, Key Laboratory of Freshwater Aquatic Biotechnology and Breeding, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Heilongjiang River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Harbin 150070, China)

Abstract: To investigate the effects of overexpressing lipoprotein lipase a gene (*lpl-a*) in common carp (*Cyprinus carpio*) on fat deposition patterns and lipid metabolism-related genes expression, we analyzed the sequence and structural characteristics of the carp *lpl-a* and examined its tissue distribution using quantitative Real-time (qPCR) in five internal tissues: abdominal fat, liver, kidney, muscle, and intestine. The *lpl-a* overexpression plasmid vector was constructed by homologous recombination and introduced into zebrafish (*Danio rerio*) and carp liver cells. The impacts of *lpl-a* overexpression on total cholesterol (T-CHO), triglyceride (TG) levels, and expressions of lipid metabolism marker genes (*ppar γ*, *fabp 3*, *pnpla 2*, etc.) were assessed in zebrafish (individual level) and carp hepatocytes (cell level). Results showed that the carp *lpl-a* was predicted to encode a 507-amino acid protein with 7 open reading frames (ORFs), and it demonstrated high evolutionary conservation in osteichthyes. Tissue-specific expression analysis revealed significantly higher *lpl-a* transcript levels in abdominal fat, liver, and kidney compared to muscle and intestine ($P < 0.05$). In zebrafish, microinjection of the *lpl-a* overexpression vector resulted in an approximately 7-fold increase in muscle T-CHO and a 1-fold increase in both T-CHO and TG in liver, accompanied by upregulation of *lpl-a*, *ppar γ*, and *fabp 3* ($P < 0.05$). In carp hepatocytes, transfection with the *lpl-a* construct for 72h significantly increased *lpl-a* and lipolytic gene *pnpla 2* expressions ($P < 0.05$). Altogether, these findings demonstrate that overexpression of *lpl-a* induced distinct lipid metabolism regulations at individual (enhanced muscle fat storage and hepatic lipid accumulation) and cellular (activated lipolysis and inhibited lipogenesis) levels, providing theoretical insights for targeting *lpl-a* to modulate lipid deposition in economically important aquatic animals.

Key words: lipoprotein lipase a (*lpl-a*); Cyprinid fish; Overexpression plasmid vector; Lipid metabolism