

文章编号: 1674-7054(2022)06-0558-04



# 文昌鸡中脂联素受体 *CDH13* 基因的表达

王颖, 吴红芬, 张颖, 汪刘浩, 那威, 吴科榜

(海南大学 动物科技学院, 海口 570228)

**摘要:** 以文昌鸡为实验材料, 利用 RT-qPCR 的方法检测在文昌鸡不同组织及腹部脂肪组织生长发育过程中 *CDH13* 的表达情况, 为鸡 *CDH13* 基因的功能研究奠定基础。研究结果显示, *CDH13* 基因在心脏、回肠、脂肪组织、小脑及肌胃中表达量较高, 脂联素表达情况与之相似; *CDH13* 基因在文昌鸡腹部脂肪组织生长发育过程中均稳定高表达, 并育肥 4 周龄时, 表达量达到最高。

**关键词:** 文昌鸡; *CDH13*; 脂联素受体; 表达规律

**中图分类号:** S 831.2; Q 786 **文献标志码:** A

**引用格式:** 王颖, 吴红芬, 张颖, 等. 文昌鸡中脂联素受体 *CDH13* 基因的表达 [J]. 热带生物学报, 2022, 13(6): 558-561. DOI: 10.15886/j.cnki.rdsxb.2022.06.003

文昌鸡是海南优质肉鸡品种, 具有觅食能力强、耐粗饲、耐热、早熟等特点<sup>[1]</sup>, 作为海南四大名菜之一, 其皮薄滑爽, 肉质肥美, 畅销于全国各地及东南亚地区, 深受广大生产者和消费者喜爱。但文昌鸡存在腹脂沉积过多的问题, 腹脂沉积过多会降低鸡的屠宰率和饲料转化率<sup>[2]</sup>, 还影响产蛋率及诱发疾病<sup>[3]</sup>, 并影响人类健康, 同时废弃的腹脂也给环境造成污染, 因此, 如何降低腹脂过度沉积是文昌鸡育种需要解决的问题。

脂联素是一种脂肪细胞因子, 由成熟脂肪细胞大量分泌, 其通过与受体结合, 激活下游通路<sup>[4]</sup>在糖脂代谢、葡萄糖的摄取、脂肪酸氧化等过程中发挥作用<sup>[5]</sup>。脂联素能够调控生物体的脂肪代谢, 是至今发现的唯一与肥胖呈负相关的脂肪细胞特异性蛋白<sup>[6]</sup>。脂联素受体包括脂联素受体 R1 和脂联素受体 R2、T-钙粘蛋白(CDH13)<sup>[7]</sup>。由于 CDH13 可以和六聚体及高分子量的脂联素结合而被认为是脂联素的第三类受体<sup>[8]</sup>。*CDH13* 与血浆脂联素水平、心血管风险、糖尿病和脂肪肝<sup>[9]</sup>等肥胖因素有关, 但关于其在鸡脂质代谢中的功能研究还未

见报道。因此, 本研究利用 RT-qPCR 的方法检测 *CDH13* 基因和脂联素基因在文昌鸡不同组织中及不同时期文昌鸡腹部脂肪组织中的表达情况, 旨在为后续深入研究 *CDH13* 的功能奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

**1.1.1 试验动物** 文昌鸡雌鸡, 由海南省文昌市潭牛文昌鸡股份有限公司提供, 参照《DB 46/T44—2011, 文昌鸡饲养管理技术规程》<sup>[10]</sup>, 实施规范的饲养管理, 执行正常的免疫程序。从 105 日龄开始笼养育肥。

**1.1.2 组织样的采取** 选取 27 日龄、52 日龄、79 日龄、105 日龄和笼养育肥 2 周龄、4 周龄、6 周龄、8 周龄 8 个饲养阶段的各 6 只文昌雌鸡, 采集腹部脂肪组织装入 5 mL 冻存管中, 迅速放入液氮中速冻后置于 -80 °C 冰箱中待用; 采集育肥 8 周龄的 3 只(随机选取 3 只)文昌雌鸡的 16 种组织, 每个个体每种组织分别采样装入 5 mL 冻存管中, 迅速放入液氮中速冻后置于 -80 °C 中保存。

收稿日期: 2022-01-17

修回日期: 2022-03-15

基金项目: 海南省基础与应用基础研究计划高层次人才项目(2019RC101)

第一作者: 王颖(1997-), 女, 海南大学动物科技学院 2019 级硕士研究生. E-mail: wy\_1428@163.com

通信作者: 那威(1986-), 女, 博士, 讲师. 研究方向: 家禽分子遗传育种研究. E-mail: nawei19861102@163.com; 吴科榜(1961-), 男, 教授. 研究方向: 动物遗传育种与繁殖学研究. E-mail: wukebang66@163.com

**1.1.3 实验主要试剂与仪器** 台式高速冷冻离心机(德国艾本德股份公司, Centrifuge 5418 R), 常规离心机(大龙兴创实验仪器(北京)股份公司, D1008E), 微量移液器(德国艾本德股份公司, Research® plus 系列), 微量分光光度计(杭州奥盛仪器有限公司, Nano-100), 荧光定量 PCR 仪(杭州朗基科学仪器有限公司, Q1000), 电泳仪、电泳槽(美国伯乐有限公司, PowerPac 系列), 超低温冰箱(松下电器有限公司, MDF-682)。

TransZol Up(北京全式金生物技术有限公司)、HiScript III RT SuperMix for qPCR(南京诺唯赞生物科技有限公司)、ChamQ Universal SYBR qPCR Master MixR(南京诺唯赞生物科技有限公司)、氯仿、无水乙醇、异丙醇、DEPC 水。

## 1.2 实验方法

**1.2.1 总 RNA 提取和 cDNA 合成** 利用 Trizol 法提取各种组织的总 RNA, 测定其浓度, 用 1.5% 的琼脂糖凝胶电泳检测总 RNA 质量。质检合格的总 RNA, 使用反转录试剂盒反转录成 cDNA, 保存于  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  备用。

**1.2.2 引物设计** 根据鸡 NCBI 上脂联素基因 mRNA 序列(NM\_206991), *CDH13* mRNA 序列(NM\_001001760.2)设计表达引物 *ADIPOQ*-F/R、*CDH13*-F/R。内参基因为 *TBP*、*HMBS*<sup>[11]</sup>。引物碱基序列见表 1。引物由上海生工生物工程技术有限公司合成。

表 1 引物序列

基因	引物序列 (5'→3')	扩增 长度/bp
<i>TBP</i>	F: GCGTTTTGCTGCTGTTATTATGAG R: TCCTTGCTGCCAGTCTGGAC	122
<i>HMBS</i>	F: TCGTGCCAAAGACCAAGAAAC R: GACACTACAGCCACCCTCCAA	118
<i>ADIPOQ</i>	F: CAACGAGCAGAACCCTACGACAG R: CTTCTTGTAGAGGCTGACCTTGACG	124
<i>CDH13</i>	F: TAACTGTTGGTGACCGAGATGA R: CTGTGGAAGCTGGGACCGTAG	237

**1.2.3 实时荧光定量 PCR (RT-qPCR) 实验** 使用 SYBR Green 荧光染料法, 反应体系(10  $\mu\text{L}$ ): 2  $\times$  ChamQ Universal SYBR qPCR Master Mix 5  $\mu\text{L}$ 、上下游引物各 0.2  $\mu\text{L}$ 、cDNA 1  $\mu\text{L}$ 、ddH<sub>2</sub>O 3.6  $\mu\text{L}$ 。反应条件: 预变性 95  $^{\circ}\text{C}$  30 s; 循环反应

95  $^{\circ}\text{C}$  10 s, 60  $^{\circ}\text{C}$  30 s, 40 个循环反应; 熔解反应 95  $^{\circ}\text{C}$  15 s, 60  $^{\circ}\text{C}$  60 s, 95  $^{\circ}\text{C}$  15 s。

**1.3 试验数据分析** 利用 SAS 软件对试验数据进行统计分析,  $P < 0.05$  差异显著; 用 Graphpad Prism 8.0 软件绘制图表。

## 2 结果与分析

**2.1 *CDH13* 及脂联素基因定性表达规律分析** 以笼养育肥 8 周龄文昌雌鸡(随机选取 3 只)的 16 种组织为实验材料, 每只个体每种组织分别提取总 RNA 后, 每种组织按照等量 RNA 进行混合, 得到该种组织的混合总 RNA 样品后, 进行反转录。RT-qPCR 实验结果显示, *CDH13* 基因在各个组织中均有表达, 在心脏(H)、回肠(I)、肌胃周围脂肪(GF)、嗉囊周围脂肪(CF)、皮下脂肪(SF)、小脑(Cr)、腹部脂肪组织(AF)及肌胃(G)中表达量较高(图 1)。

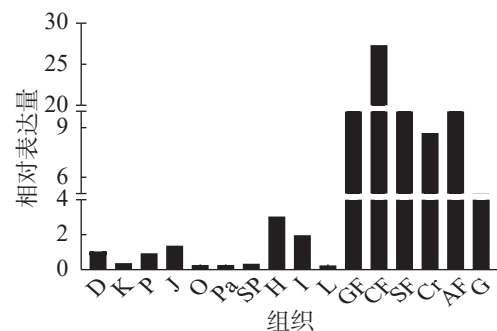


图 1 *CDH13* 基因在文昌鸡 16 种组织中的表达情况

H: 心脏, L: 肝脏, D: 十二指肠, J: 空肠, I: 回肠, Sp: 脾脏, K: 肾脏, G: 肌胃, P: 腺胃, Pa: 胰腺, SF: 皮下脂肪, CF: 嗉囊周围脂肪, AF: 腹部脂肪组织, GF: 肌胃周围脂肪, O: 卵巢, Cr: 小脑。

脂联素基因在空肠(J)、心脏(H)、回肠(I)、肌胃周围脂肪(GF)、嗉囊周围脂肪(CF)、皮下脂肪(SF)、腹部脂肪组织(AF)、及肌胃(G)中表达量较高(图 2), 与 *CDH13* 定性表达结果相似。

**2.2 *CDH13* 及脂联素在文昌鸡腹部脂肪组织生长发育过程中的表达规律检测** 27 日龄、52 日龄、79 日龄、105 日龄和笼养育肥 2 周龄、4 周龄、6 周龄、8 周龄每个时期随机选取 6 只文昌雌鸡, 采取腹部脂肪组织提取总 RNA 后进行反转录。RT-qPCR 实验结果(图 3)显示, *CDH13* 在文昌鸡腹部脂肪组织生长发育各个时期中均稳定高表达, 并育肥 4 周龄时, 表达量达到最高。

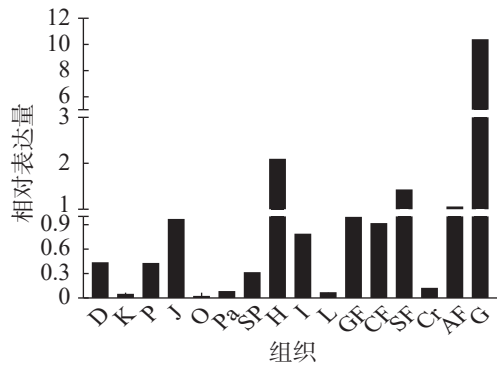


图2 脂联素基因在文昌鸡 16 种组织中的表达情况

H: 心脏, L: 肝脏, D: 十二指肠, J: 空肠, I: 回肠, Sp: 脾脏, K: 肾脏, G: 肌胃, P: 腺胃, Pa: 胰腺, SF: 皮下脂肪, CF: 嗦囊周围脂肪, AF: 腹部脂肪组织, GF: 肌胃周围脂肪, O: 卵巢, Cr: 小脑。

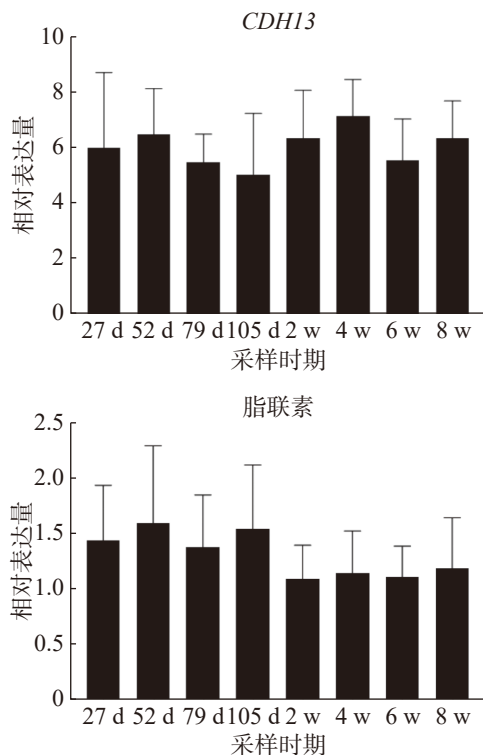


图3 *CDH13* 和脂联素基因在各个时期文昌鸡腹部脂肪组织中的表达情况

注: 采样时期为 27 日龄 (27 d)、52 日龄 (52 d)、79 日龄 (79 d)、105 日龄 (105 d) 和笼养育肥 2 周龄 (2 w)、4 周龄 (4 w)、6 周龄 (6 w)、8 周龄 (8 w)。

### 3 讨论

脂肪组织作为一种内分泌器官,能够分泌多种细胞因子。脂联素是机体的脂质代谢调控网络中的重要调节因子。*CDH13* 是脂联素的受体之一。*CDH13* 和脂联素基因定性表达结果显示,*CDH13* 基因在文昌鸡各个组织中广泛表达;其在心脏、回肠、小脑、脂肪组织及肌胃中表达量较

高。脂联素在空肠、心脏、回肠、脂肪组织及肌胃中表达量较高,这与前人的研究结果一致。YUAN 等<sup>[12]</sup>的研究结果显示脂联素在脂肪组织、胃、皮肤和心脏中高度表达。鹅脂联素在脂肪、心脏和肌胃中高度表达,在小肠、腺胃、肾等组织中度表达,而在肝脏、脾脏和卵巢等组织低表达<sup>[13]</sup>。MADDINENI 等<sup>[14]</sup>研究发现鸡脂联素在脂肪组织、肝脏、垂体前叶、间脑、骨骼肌、肾脏、卵巢和脾脏均表达,并在脂肪组织中表达最高,其次是肝脏、间脑、肾和骨骼肌。

本研究中 *CDH13* 和脂联素基因定量表达结果显示,脂联素在育肥后文昌鸡腹部脂肪组织中的表达量均低于育肥前。在人、猴子、小鼠中,脂肪组织脂联素基因表达量随脂肪过度沉积而下降,随体重下降而上升<sup>[15]</sup>。育肥期是文昌鸡脂肪快速沉积的时期,育肥期的脂肪含量显著高于育肥前,这可能也是育肥后腹部脂肪组织中脂联素的表达量低于育肥前的原因。*CDH13* 是脂联素的受体,*CDH13* 定量表达结果和脂联素相似,均在脂肪组织中高表达,暗示在脂肪组织中,*CDH13* 基因可能发挥一定的作用,但作用机制尚不明确,有待深入研究。目前关于 *CDH13* 的研究较少,因此本研究检测 *CDH13* 在文昌鸡多种组织和腹部脂肪组织生长发育过程中的表达情况,可为今后 *CDH13* 基因的深入研究奠定基础。

### 4 结论

脂联素受体 *CDH13* 在文昌鸡各个组织中均有表达,在心脏、回肠、脂肪组织、小脑及肌胃组织中高度表达。在文昌鸡腹部脂肪组织生长发育过程中,*CDH13* 持续高表达。

### 参考文献:

- [1] 冯飞,李义书,林苓.文昌鸡产业发展现状及产业化发展思路[J].安徽农业科学,2014,42(20):6608-6610.
- [2] LEVEILLE GA. Glycogen metabolism in meal-fed rats and chicks and the time sequence of lipogenic and enzymatic adaptive changes. The Journal of nutrition[J]. 1966,90(4):449-460.
- [3] 龚道清,李辉.控制肉鸡体脂沉积的遗传选择方法[J].国外畜牧科技,2000(5):29-32.
- [4] SCHEID M P, SWEENEY G. The role of adiponectin signaling in metabolic syndrome and cancer [J]. Reviews in Endocrine & Metabolic Disorders, 2014, 15:

- 157–167.
- [5] PARKER-DUFFEN J L, NAKAMURA K, SILVER M, KIKUCHI R, et al. T-cadherin is essential for adiponectin-mediated drevascularization [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2013, 288: 24886–24897.
- [6] YANG W S, LEE W J, FUNAHASHI T, et al. Plasma adiponectin levels in overweight and obese Asians [J]. *Obes. Res*, 2002, 10(11): 1104–1110.
- [7] 孙岩萍, 李兴. T-钙粘蛋白—一种新的脂联素受体[J]. 国际内科学杂志, 2007, 34(9): 549–551.
- [8] 俞匀, 朱大龙. 脂联素及其受体研究进展[J]. *医学研究生学报*, 2005, 18: 841–844.
- [9] GÖDDEKE S, KNEBEL B, FAHLBUSCH P, et al. *CDH13* abundance interferes with adipocyte differentiation and is a novel biomarker for adipose tissue health. *International journal of obesity (2005)*[J]. 2018, 42(5): 1039–50.
- [10] 林哲敏, 李汝权. 文昌鸡饲养管理技术规程[J]. 中国禽业导刊, 2004, 21(1): 37–39.
- [11] NA W, WANG Y, GONG P, et al. Screening of Reference Genes for RT-qPCR in Chicken Adipose Tissue and Adipocytes. *Frontiers in physiology*[J]. 2021, 12: 676864.
- [12] YUAN J, LIU W, LIU Z L, et al. cDNA cloning, genomic structure, chromosomal mapping and expression analysis of *ADIPOQ* (adiponectin) in chicken [J]. *Cytogenetic & Genome Research*, 2006, 12: 148–151.
- [13] 徐国庆, 龚道清, 储冬生, 等. 鹅脂联素基因的克隆、序列分析及组织表达[J]. *农业生物技术学报*, 2008, 16(6): 941–946.
- [14] MADDINENI S, METZGER S, OCÓN O, et al. Adiponectin gene is expressed in multiple tissues in the chicken: food deprivation influences adiponectin messenger ribonucleic acid expression. [J]. *Endocrinology*, 2005, 146(10): 4250–4256.
- [15] 董飏, 孟和, 顾志良, 等. 脂联素与脂联素受体的研究进展[J]. *中国畜牧兽医*, 2007(2): 44–48.

## Expression pattern of adiponectin receptor gene *CDH13* in Wenchang Chickens

WANG Ying, WU Hongfen, ZHANG Ying, WANG Lihao, NA Wei, WU Kebang  
(college of animal science and technology of hainanu university)

**Abstract:** Wenchang Chicken is a local excellent broiler breed in Hainan, which has the advantages of strong adaptability, heat resistance and good meat quality. At present, there is a problem with high abdominal fat rate in Wenchang Chickens. Excessive fat deposition is undesirable since it decreases feed efficiency, and affects human health. Adiponectin, which is secreted by mature adipose cells, plays an important role in lipid metabolism. *CDH13* is the third type of receptor for adiponectin, and the function of chicken *CDH13* has not yet been reported. Therefore, the expression pattern of *CDH13* in different tissues and during the growth and development of the abdominal adipose tissue of Wenchang Chickens was determined by using the RT-qPCR. The results showed that the gene *CDH13* had higher mRNA abundance in the heart, ileum, adipose tissue, cerebellum and gizzard, and that adiponectin had similar trend of transcriptional levels to *CDH13*. The gene *CDH13* was stably and highly expressed during the growth and development of abdominal adipose tissue, and its expression level was the highest at the age of the fourth week in the fattening period.

**Keywords:** Wenchang Chicken; *CDH13*; adiponectin receptor; expression pattern

(责任编辑:罗启香 责任编辑:叶静)