



Retsatab介导*fads2*在提高淡水鱼HUFA合成中的作用机制

孙守向, 郭建林, 高坚

华中农业大学水产学院, 湖北武汉 430070; 浙江省淡水水产研究所, 浙江湖州 313000

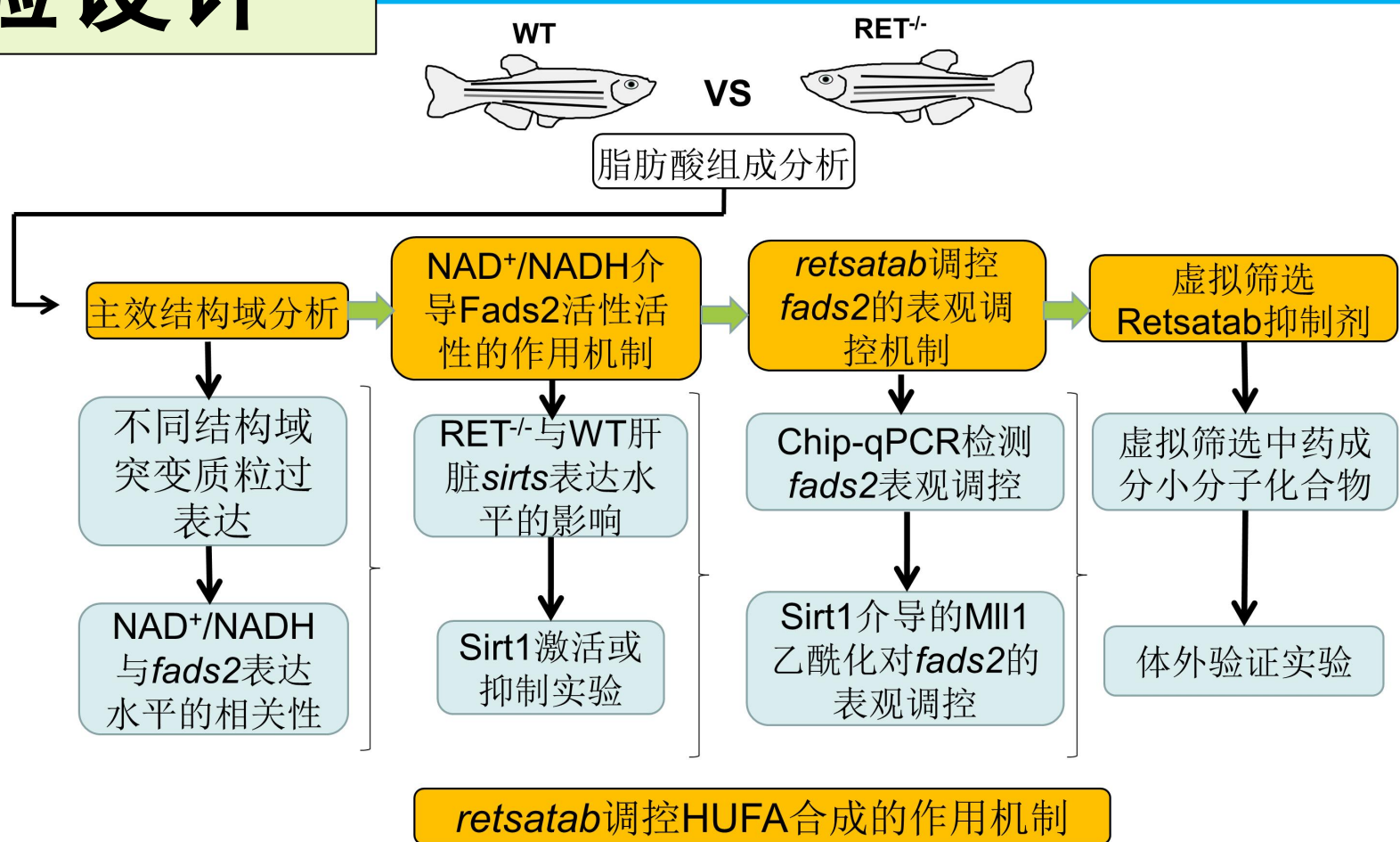
研究背景

高度不饱和脂肪酸 (HUFA) 在维持人和动物体正常生长发育及生理功能中发挥重要作用。鱼类是人体获取HUFA的主要食物来源。淡水鱼可以通过脂肪酸去饱和酶 (Fads) 及延长酶将PUFA内源转化为HUFA。Fads2已被证明是鱼类HUFA合成的限速因子, 揭示*fads2*在鱼类HUFA合成中的调控机制是提高鱼类HUFA内源性合成的重要前提。我们前期的研究结果显示视黄醇饱和酶 (Retsatab) 参与淡水鱼HUFA的合成, 但是Retsatab如何调控*fads2*参与HUFA合成及其分子机制仍然未知。

研究意义

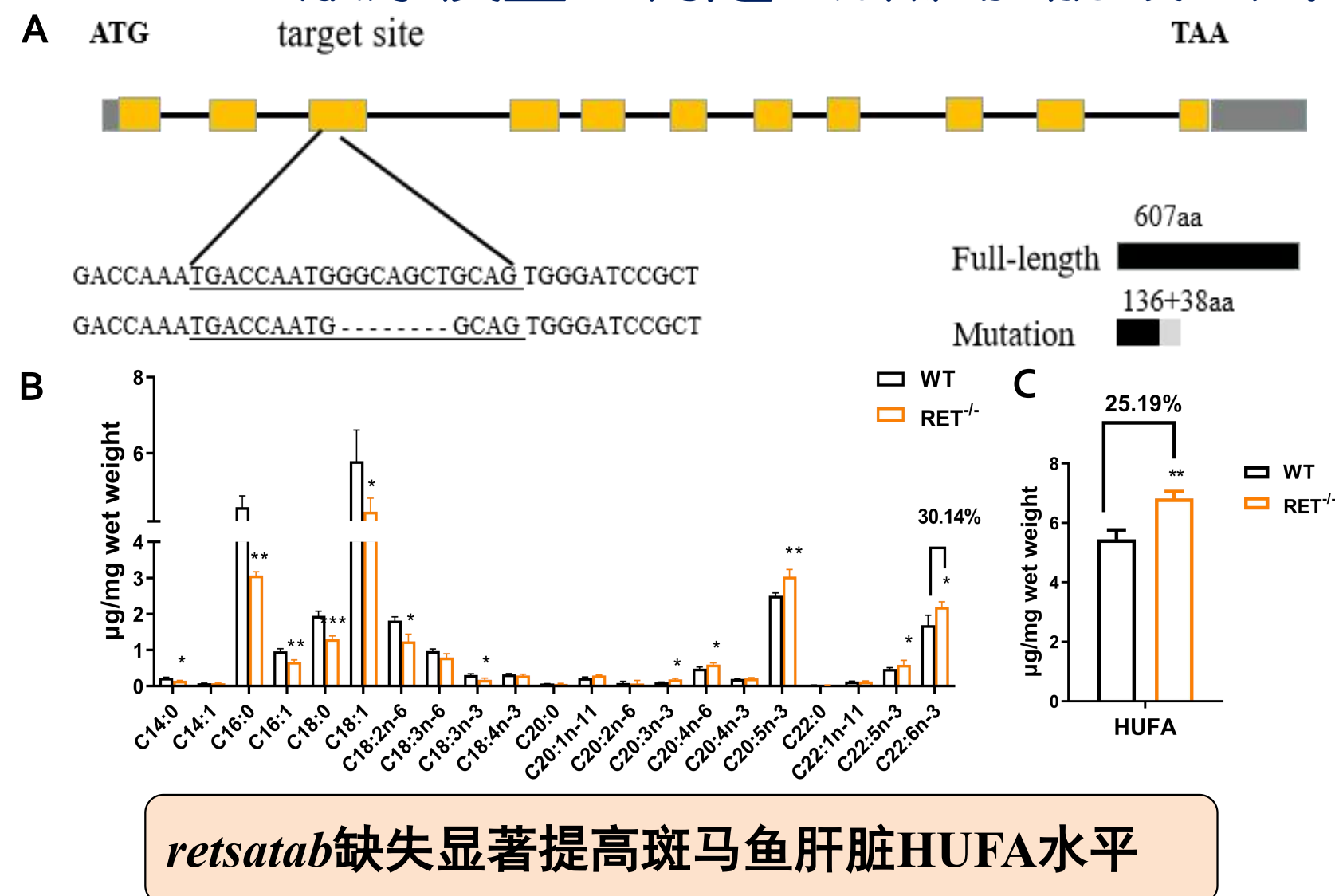
本研究首次将进行了鱼类HUFA合成的表观调控研究, 为鱼类HUFA合成及其调控机制提供了的新理解, 为提高鱼类HUFA合成水平提供新的基因与调控靶点, 以减少对水产饲料对鱼油、鱼粉的依赖, 解放海洋资源, 促进水产养殖业的可持续发展

实验设计

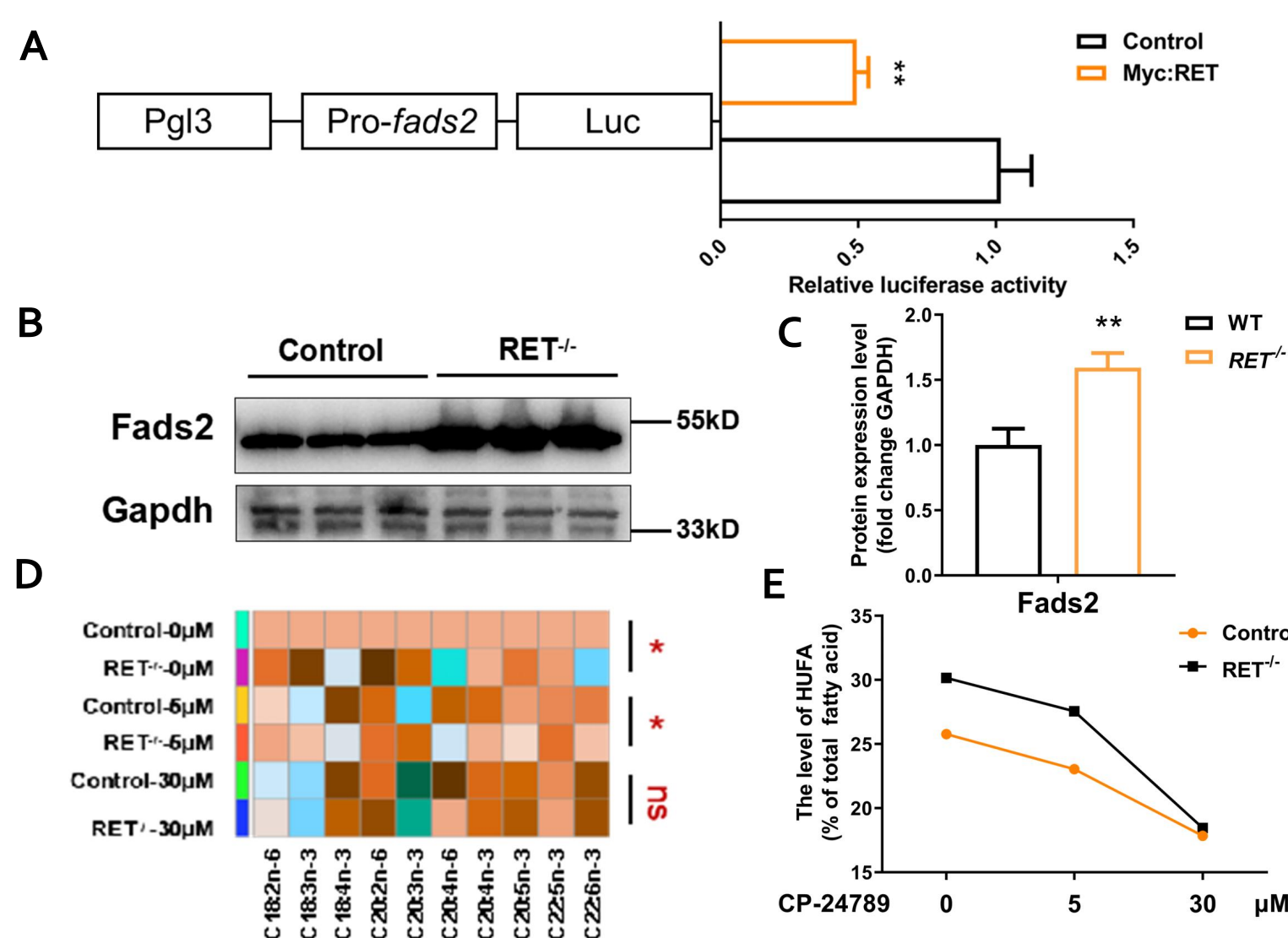


结果与分析

*retsatab*敲除模型的构建及肝脏脂肪酸组成



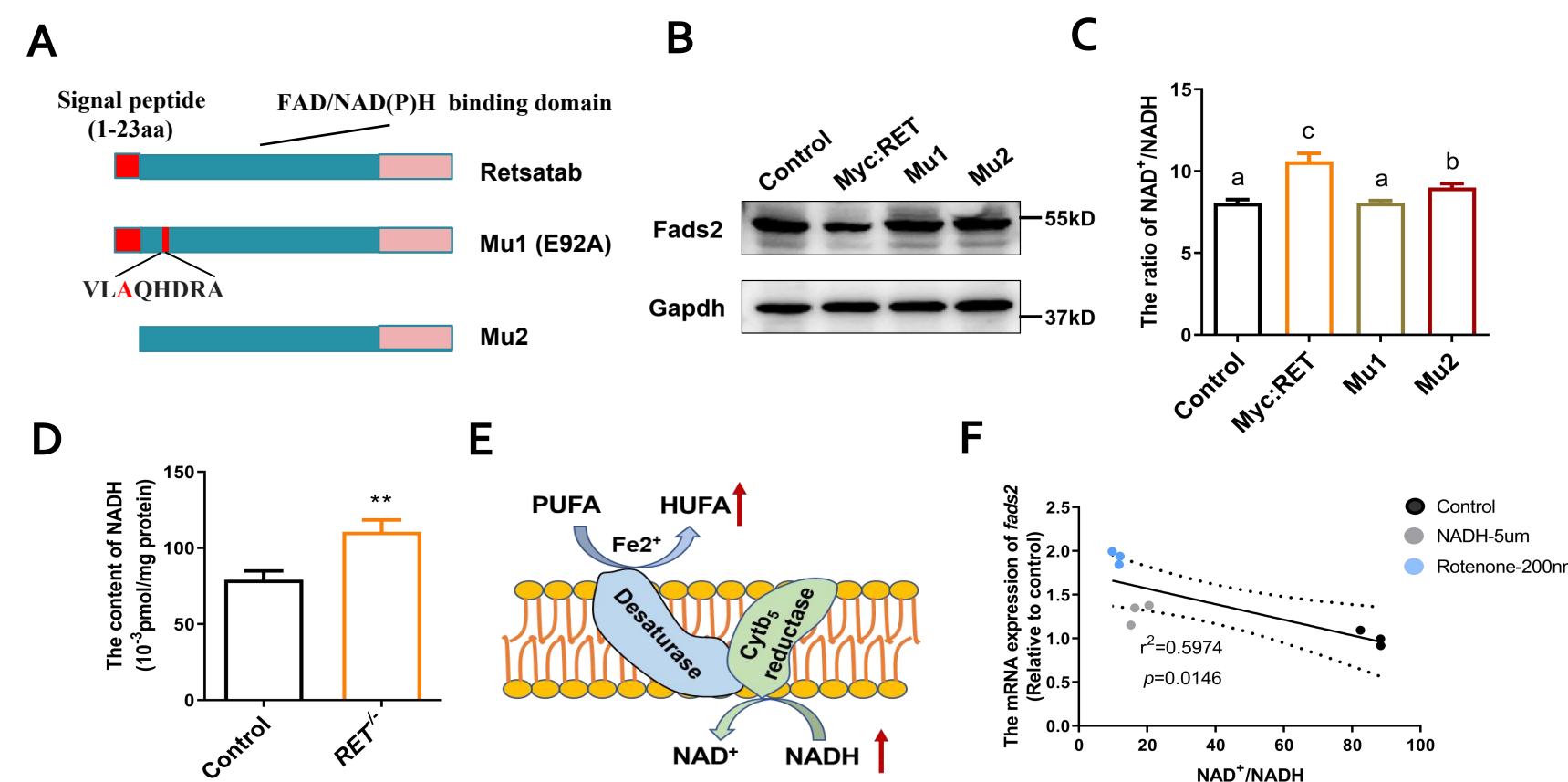
*retsatab*缺失对Fads2活性的影响



A. 双荧光素酶测定*retsatab*过表达对*fads2*转录水平的影响; B. *retsatab*缺失对Fads2蛋白表达水平的影响; C-D. Fads2抑制剂 (CP-24789) 处理对*retsatab*缺失介导的HUFA合成的影响

*fads2*在*retsatab*缺失提高HUFA合成中发挥不可替代的作用

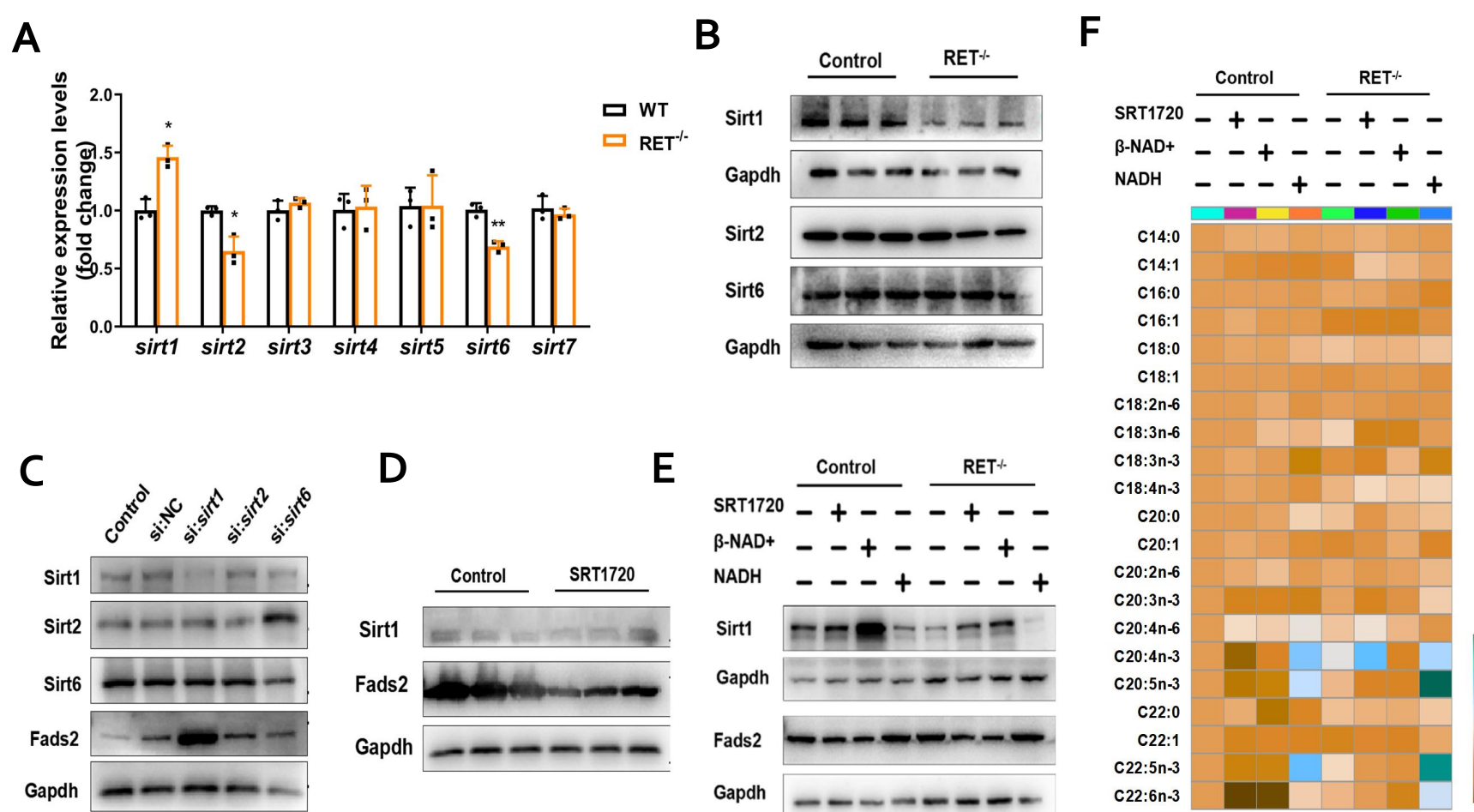
Retsatab调控Fads2活性的主效结构域分析



A-C. 不同结构域突变*retsatab*过表达对Fads2蛋白表达水平及NAD⁺/NADH水平的影响; D. *retsatab*缺失对NAD⁺/NADH水平的影响; E-F. NAD⁺/NADH与*fads2*转录水平的相关性分析

FAD/NAD(P)H结合结构域对调节的Fads2活性至关重要

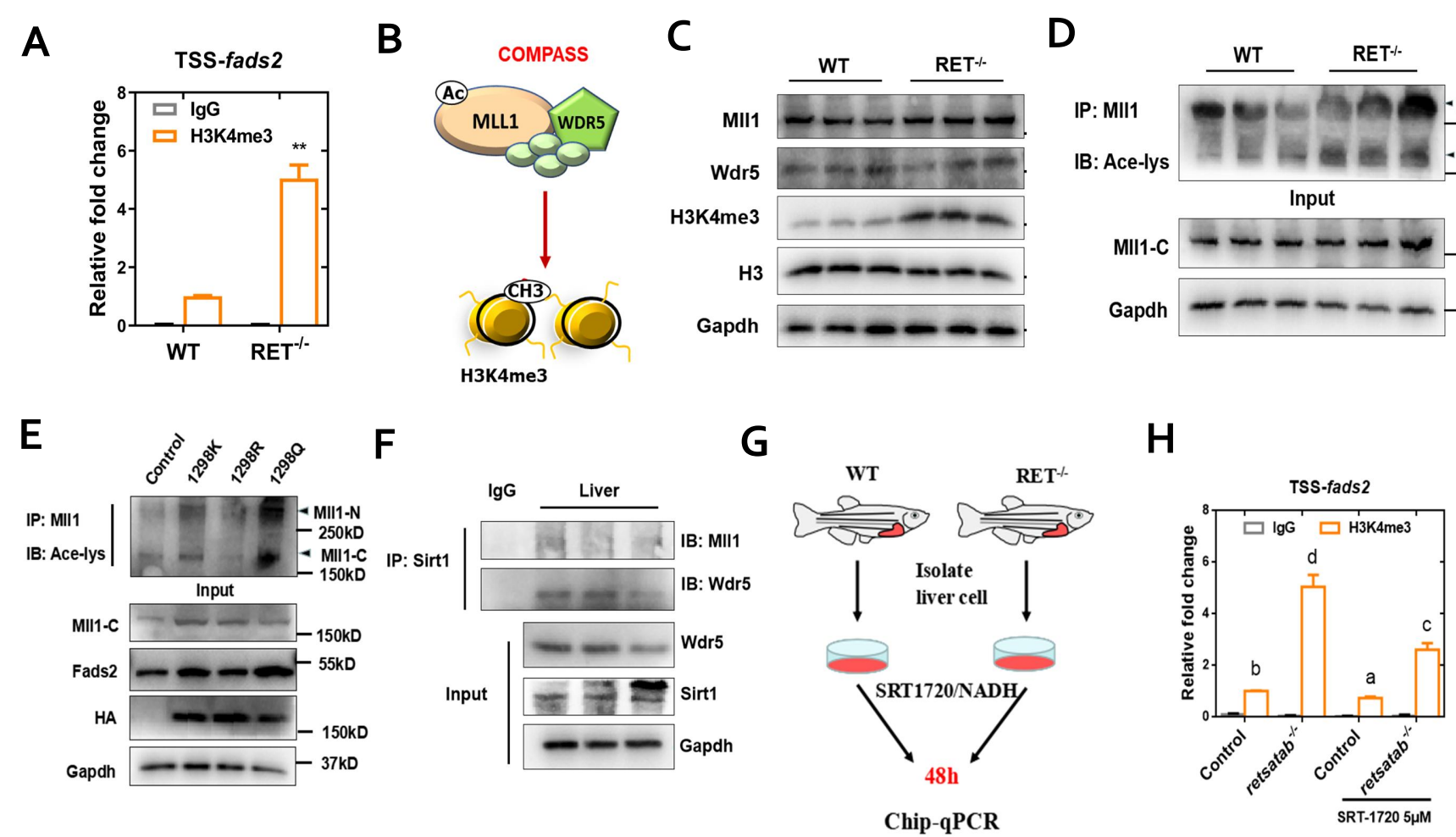
Sirt1介导*retsatab*对*fads2*的调控作用



A-B. *retsatab*缺失对Sirts家族基因及蛋白表达水平的影响; C-D. *sirt1*、3、6敲降及激活对Fads2蛋白表达的影响; E-F. SRT1720 激活剂抑制剂处理WT和RET^{-/-}斑马鱼肝脏细胞Fads2蛋白表达水平的影响

*retsatab*缺失抑制Sirt1活性提高Fads2活性

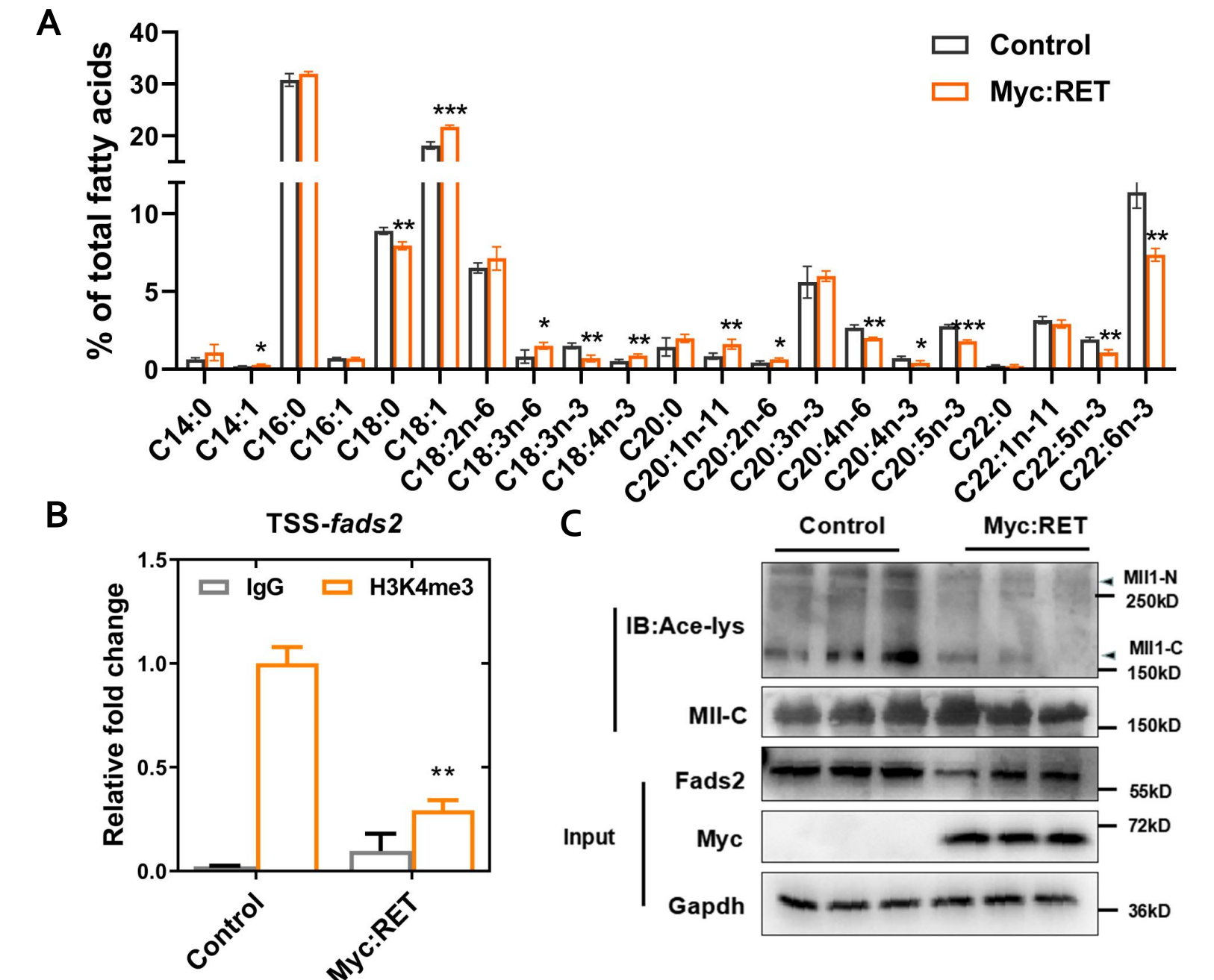
*retsatab*缺失对*fads2*基因的表观调控影响



A-C. *retsatab*的缺失对H3K4me3在*fads2*启动子富集水平及COMPASS相关蛋白表达水平的影响; D. WT与RET^{-/-}斑马鱼肝脏组织MII1乙酰化水平检测; E. MII1乙酰化水平对Fads2活性的影响; F. IP实验检测Sirt1与MII1的互作; G-H. Sirt1激活或抑制对*fads2*表观调控的影响

MII1乙酰化介导Retsatab对*fads2*的表观调控

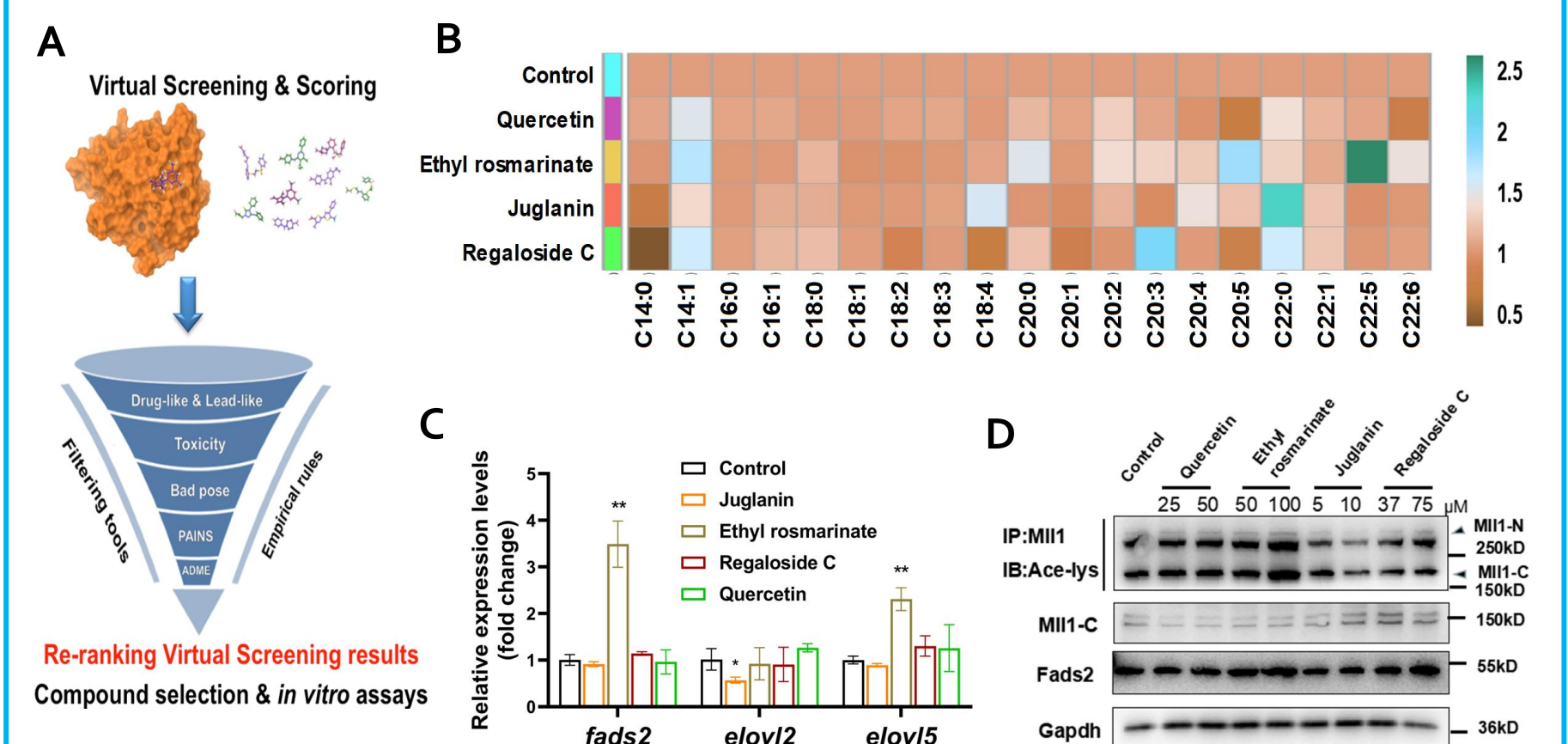
*retsatab*过表达对MII1乙酰化及HUFA合成的影响



A-C. *retsatab*过表达对脂肪酸组成 (A)、*fads2*表观调控 (B)、MII1乙酰化水平 (C) 的影响。

*retsatab*的过表达抑制了MII1的乙酰化降低Fads2活性

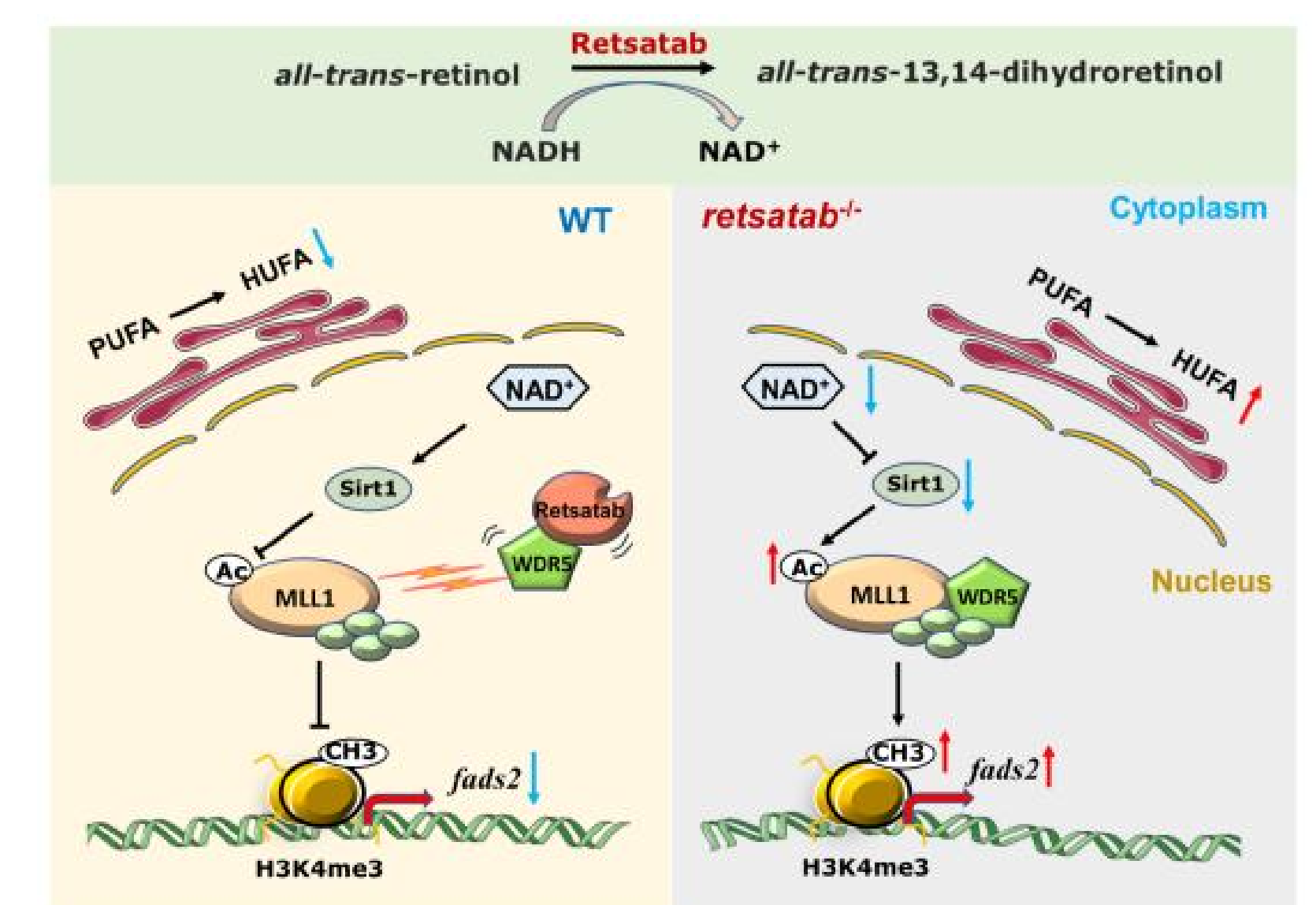
分子对接虚拟筛选天然化合物中的Retsatab抑制剂



A. 虚拟筛选流程图; B. 小分子化合物 (槲皮素、迷迭香酸乙酯、胡桃苷、王百合苷C) 处理对斑马鱼肝细胞脂肪酸组成的影响; C. 小分子化合物对HUFA相关基因表达及MII1乙酰化水平的影响

迷迭香酸乙酯可以介导Retsatab活性参与HUFA合成过程

结论



*retsatab*可通过Sirt1-MII1-H3K4me3通路介导*fads2*表观调控参与HUFA合成