

# fbxo32基因在traf6缺失斑马鱼肝脏中的表达分析

吴士培 欧密 李凯彬 许巧情 徐红艳

# THE EXPRESSION ANALYSIS OF FBX032 GENE IN LIVER OF TRAF6 MUTANT ZEBRAFISH

WU Shi-Pei, OU Mi, LI Kai-Bin, XU Qiao-Qing, XU Hong-Yan 在线阅读 View online: https://doi.org/10.7541/2021.2020.043

### 您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

# 东北七鳃鳗TRAF6基因克隆、表达分析及亚细胞定位研究

MOLECULAR CLONING, EXPRESSION ANALYSIS AND SUBCELLULAR LOCALIZATION OF TUMOR NECROSIS FACTOR RECEPTOR–ASSOCIATED FACTOR 6 IN KOREAN LAMPREY, *LETHENTERON MORII* 

水生生物学报. 2019, 43(1): 9-16 https://doi.org/10.7541/2019.002

肌间刺缺失对斑马鱼骨骼发育的影响

COMPARATIVE ANALYSIS OF SKELETAL DEVELOPMENT BETWEEN WILDTYPE ZEBRAFISH AND INTERMUSCULAR BONE–DEFICIENT MUTANTS

水生生物学报. 2020, 44(3): 546-553 https://doi.org/10.7541/2020.067

Fus在斑马鱼生长发育及两性生长异形中的功能

FUS IS ESSENTIAL FOR SOMATIC GROWTH AND SEXUAL SIZE DIMORPHISM IN ZEBRAFISH

水生生物学报. 2019, 43(3): 465-472 https://doi.org/10.7541/2019.057

斑马鱼IRF11基因的鉴定、亚细胞定位及表达特征

IDENTIFICATION, SUBCELLULAR LOCALIZATION AND EXPRESSION CHARACTERIZATION OF ZEBRAFISH IRF11 水生生物学报. 2017, 41(1): 1-8 https://doi.org/10.7541/2017.1

亚麻籽油和豆油替代鱼油对大黄鱼肝脏和肌肉脂肪酸组成及 $\Delta 6$ Fad基因表达的影响

THE EFFECTS OF LINSEED OIL AND SOYBEAN OIL ON FATTY ACID COMPOSITION AND  $\Delta$  6FAD GENE EXPRESSION IN LIVER AND MUSCLE OF LARGE YELLOW CROAKER (*LARIMICHTHYS CROCEA*)

水生生物学报. 2018, 42(2): 232-239 https://doi.org/10.7541/2018.029

血红素加氧酶1在斑马鱼低氧应激中的保护作用研究

STUDIES ON THE PROTECTIVE ROLE OF ZEBRAFISH HO1 IN RESPONSE TO HYPOXIA

水生生物学报. 2017, 41(1): 43-49 https://doi.org/10.7541/2017.6



关注微信公众号,获得更多资讯信息

doi: 10.7541/2021.2020.043

# fbxo32基因在traf6缺失斑马鱼肝脏中的表达分析

吴士培<sup>1,2</sup> 欧 密<sup>2</sup> 李凯彬<sup>2</sup> 许巧情<sup>1\*</sup> 徐红艳<sup>1,2,3\*</sup>

(1. 长江大学动物科学学院, 荆州 434025; 2. 中国水产科学研究院珠江水产研究所, 农业农村部热带亚热带水产资源利用与 养殖重点实验室, 广州 510380; 3. 西南大学水产学院, 淡水鱼类资源与生殖发育教育部重点实验室, 重庆 400715)

摘要:为了进一步研究fbxo32在肝脏相关疾病中的作用,进行了traf6缺失斑马鱼Danio rerio肝脏的组织切片分析,结果显示斑马鱼traf6缺失个体表现出明显的肝萎缩特征,包括肝脏组织结构松散、肝细胞排列不规则及缺少肝脂肪滴等症状。同时荧光定量实验表明fbxo32mRNA在检测过的野生型斑马鱼组织中均有一定量的表达,在肝脏中表达量较低而在卵巢中表达量较高。而与野生型斑马鱼相比,fbxo32mRNA在traf6突变体斑马鱼肝脏中的表达量上调超过100倍。进一步原位杂交结果显示,fbxo32mRNA的信号主要集中于肝脏细胞,而在血细胞中则没有检测到信号。特别是与野生型斑马鱼相比,fbxo32mRNA在traf6突变型斑马鱼肝脏中的信号明显增强。实验结果表明traf6缺失能引起fbxo32基因的上调表达,并会导致traf6突变型斑马鱼肝脏发育异常并发生萎缩。

关键词: 肝脏萎缩; *fbxo*32; *traf*6突变体; 原位杂交; 斑马鱼 中图分类号: Q344<sup>+</sup>.1 文献标识码: A 文章编号: 1000-3207(2021)05-0945-06

Fbox32(也被称为atrogin-1或MAFbx)是F-box 蛋白家族的一员,而F-box蛋白家族是SCF泛素蛋 白连接酶复合物中的一类亚单位蛋白,它能够特 异性地识别磷酸化的底物,而不同的F-box蛋白可 以相应地识别不同的磷酸化底物<sup>[1]</sup>。许多研究表 明, Fbox32在各种原因引起的肌肉萎缩中起着关 键的作用。如有研究发现,在禁食导致的小鼠 (Mus musculus)肌肉萎缩过程中, fbxo32基因在小 鼠骨骼肌中的表达量上调超过9倍<sup>[2]</sup>。在小鼠肌 小管中, fbxo32基因的大量表达导致肌小管出现萎 缩现象,而当敲除小鼠的fbxo32基因后,fbxo32一基 因型小鼠肌肉萎缩的症状相比野生型小鼠明显减 轻<sup>[3]</sup>。更有进一步的研究发现,转录因子Foxo可 以通过诱导fbxo32的表达使小鼠肌肉发生萎缩,而 IGF-PI3K-AKT信号通路则能通过使转录因子 Foxo失活来抑制fbxo32的表达<sup>[4]</sup>。此外, fbxo32和 endophilin-A之间的相互作用有助于维持泛素蛋 白酶系统的稳定和神经元的健康<sup>[5]</sup>。在鸡(Gallus gallus)中, fbxo32的高表达会加快肌肉蛋白的降解 速率<sup>[6]</sup>。同样,有研究表明在禁食的虹鳟(Onco*rhynchus mykiss*)中, *fbxo*32的高表达可能与鱼体骨骼肌和平滑肌的萎缩相关<sup>[7]</sup>。在斑马鱼(*Danio rerio*)中, *fbxo*32的缺失会导致心肌发育及心脏功能异常<sup>[8]</sup>。

值得关注的是,本研究组最近研究发现*traf6*基因的缺失能引起肝脏组织基因转录本表达谱的改变,特别是*fbxo32*转录本的表达水平的变化尤为显著,其在*traf6*基因突变体斑马鱼肝脏中的表达异常增加近100倍(与野生型相比)。为了进一步研究斑马鱼*fbxo32*生理功能,我们进行了斑马鱼肝脏组织学分析;*fbxo32*转录本组织特异性分析,进一步比较分析了*fbxo32*转录本在*traf6*突变体与野生型斑马鱼的相关组织中的差异表达。特别是通过冰冻切片原位杂交技术,深入分析了*fbxo32*转录本在*traf6*突变体与野生型斑马鱼肝脏组织的细胞定位及差异表达。本研究结果进一步利用斑马鱼这一优异的人类疾病研究模式生物<sup>[9,10]</sup>,为探讨相关疾病特别是肝萎缩的病理机制提供了新的线索及靶标。



收稿日期: 2020-03-10;修订日期: 2020-07-16

基金项目: 广东省自然科学基金(2018A030310054)资助 [Supported by the Natural Science Foundation of Guangdong Province (2018A030310054)]

作者简介:吴士培(1995—), 男, 硕士研究生; 主要从事鱼类免疫学研究。E-mail: 738442813@qq.com

通信作者:许巧情, E-mail: xuqiaoqing@163.com 徐红艳, E-mail: xuhyzqh@163.com \*共同通信作者

# 1 材料与方法

# 1.1 实验动物

本实验所用野生型斑马鱼(*traf*6<sup>+/+</sup>)和纯合型 *traf6*突变体斑马鱼(*traf*6<sup>-/-</sup>)均来自中国水产科学研 究院珠江水产研究所, *traf*6<sup>-/-</sup>斑马鱼是由本所研究 团队通过CRISPR/Cas9基因敲除技术获得, 该突变 体为*traf*6第二外显子发生蛋白编码移框突变, 导致 Traf6蛋白缺失(未发表数据)。

# 1.2 cDNA的制备

本研究提取的野生型斑马鱼体组织包括:脑、 肝脏、脾脏、肾脏、精巢、卵巢、肌肉和肠。提 取的纯合型斑马鱼体组织包括:脑、肝脏、脾脏、 肾脏和精巢。各个组织的总RNA是根据说明书,用 TRIzol法提取得到的,提取的各组织总RNA均用 DNase I 处理。然后用RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit试剂盒并按照试剂盒附带的说明书将 RNA反转录获得相应的cDNA。

# 1.3 肝脏组织学分析

2月龄野生型和纯合型斑马鱼各取1尾, 对斑马 鱼进行麻醉后, 在4℃下固定于4% PFA(Paraformaldehyde, PFA)中, 固定48h。在固定完成后对斑马鱼 样品进行脱水、渗透和石蜡包埋处理, 然后用病理 切片机(RM2016, Leica)将包埋好的样品切片, 切片 厚度为1 µm。最后将组织切片进行HE(Ehematoxylin and eosin)染色, 染色后的切片将用于常规组 织学检查。

### 1.4 fbxo32基因在斑马鱼各个组织中表达分析

用荧光定量qRT-PCR法,以*EF1*a为内参基因, 检测斑马鱼*fbxo*32基因在不同组织中的相对表达情况。qRT-PCR所用的试剂盒为i*Taq*<sup>TM</sup> Universal SY-BR<sup>®</sup> Green Supermix,进行qRT-PCR反应的仪器为 StepOnePlus。PCR反应条件为:95℃ 2 min;95℃ 15s, 60℃ 30s, 72℃ 30s, 40个循环;95℃ 15s, 60℃ 1min, 95℃ 15s。用2<sup>-ΔΔCI</sup>法将对应的结果与对照组 结果进行比较得出相对表达量<sup>[18]</sup>。计算数据分别 来自3个重复组。引物序列如表 1所示。

表1 引物序列

	Tab. 1 Primers list	
引物名称	引物序列	用途
Primer name	Sequence (5'—3')	Application
fbxo32-F	ACTGCCAATAACCCAGAGAGC	荧光定量
fbxo32-R	CCCTGCCTCAAGTCATCCA	荧光定量
TZ-fbxo32-F	ATTTAGGTGACACTATAGAAA CTGCCAATAACCCAGAGAGC	原位杂交
TZ-fbxo32-R	TAATACGACTCACTATAGGG CCCTGCCTCAAGTCATCCA	原位杂交

#### 1.5 冰冻切片原位杂交

原位杂交中合成探针所用的引物TZ-fbxo32-F和TZ-fbxo32-R的序列如表 1所示。用引物通过 PCR反应合成带有SP6启动子和T7启动子的DNA. 将所得DNA纯化,再以经过纯化后DNA为模板,用 DIG RNA Labeling Kit试剂盒分别合成带地高辛 (Digoxigenin)标记的反义RNA探针和正义RNA探 针。成鱼肝脏组织: 各取1条野生型成鱼和纯合型 成鱼的肝脏组织,再经过4%PFA固定12—18h,用不 同浓度(25%、50%、75%和100%)的甲醇溶液(用 DEPC水处理过的PBS配制)梯度脱水,最后组织置 于100%甲醇保存于--20℃备用。切片前将保存的 肝脏组织取出用不同浓度甲醇梯度复水,然后置于 30%蔗糖在-4℃渗透过夜。在切片时,用OCT包埋 组织后进行冰冻切片,切片厚度为4 um。在切片准 备完毕后,用带地高辛标记的RNA探针进行原位杂 交。具体原位杂交步骤参考之前研究采用的方法<sup>[11]</sup>。

# 1.6 统计学处理

荧光定量结果使用Prism 6软件处理并作图,结 果表示为平均值±SEM。用SPSS 20.0软件中的T检 验进行差异显著性分析, P<0.05表示差异显著并用 \*标记, P<0.01表示差异极显著用\*\*标记。

# 2 结果

#### 2.1 traf6突变体肝脏组织发生病变

通过斑马鱼肝脏组织的石蜡切片及苏木精伊 红染色组织学比较分析,发现*traf*6突变体肝脏组织 发生了明显的病理变化,具体表现为肝脏组织结构 松散零乱,肝细胞脂肪滴稀少;相反,野生型肝脏组 织中肝脏细胞胞体大,排列规则,其脂肪滴多且明 显(图 1)。

# 2.2 斑马鱼基因的组织表达

本实验通过qRT-PCR技术分析了斑马鱼fbxo32 基因在野生型斑马鱼体组织(包括肝脏、肌肉、 脑、脾脏、肾脏、精巢、卵巢和肠道)的组织特异 性表达分析。结果显示,在野生型斑马鱼中,fbxo32 在各个组织中都有表达,其中在肝脏中表达量最低, 在肌肉等组织中的表达量比较高(图 2)。进而,我 们比较分析了fbxo32在野生型和traf6突变体斑马鱼 的肝脏和肾脏等组织中的差异表达,结果发现 fbxo32在traf6突变体斑马鱼肝脏的表达量相对其他 组织来说是最高的,并与野生型斑马鱼肝脏相比增 加了近100倍(图 3)。结果暗示了traf6基因的缺失 会诱导fbxo32在斑马鱼肝脏中的异常高表达。

#### 2.3 fbxo32基因在肝脏组织中的表达

为了进一步分析fbxo32 mRNA在斑马鱼肝脏



图 1 traf6缺失斑马鱼肝脏组织结构异常

#### Fig. 1 traf6 deficiency causes the abnormality of liver

2月龄斑马鱼肝脏组织横切面组织学分析,通过石蜡包埋切片 及苏木精伊红染色,进行*traf6*缺失斑马鱼肝脏组织(A)与野生型 肝脏组织(B)的比较分析。肝细胞核用箭头标示,肝细胞脂肪滴 用星号标示。比例尺,20 μm

The transverse sections of 2-month-old zebrafish liver. A, liver of  $traf6^{-/-}$  zebrafish. B, liver of wild-type (wt) zebrafish. Liver nucleus were indicated by arrows. Stars for the Lipid droplets of hepatocytes. Scale bars, 20 µm





组织中的表达变化及细胞定位,我们进行了traf6突 变体及野生型斑马鱼肝脏组织的冰冻切片及fbxo32 mRNA的原位杂交分析。结果表明在traf6突变体 肝脏组织中,fbxo32 mRNA杂交信号明显比野生型 肝脏组织的强(图 4)。进一步结合PI染色结果分析, 发现无论在traf6突变体肝脏组织还是在野生型斑 马鱼肝脏组织中,fbxo32 mRNA杂交信号均特异分



图 3 fbxo32转录本在野生型和traf6突变体斑马鱼相关组织中的表达差异

Fig. 3 The differential expression of *fbxo*32 mRNA in different tissues between wild type and *traf*6 mutant zebrafish

布在肝脏细胞中(细胞核比较圆),而在肝脏组织中 的其他细胞,比如血细胞(细胞核长呈梭型)中就难 以检测到杂交信号(图 5)。

# 3 讨论

本研究通过荧光定量技术分析了fbxo32基因在 斑马鱼不同组织中的表达情况,结果显示,fbxo32在 不同组织中都有广泛的表达,在肌肉和卵巢组织中 的表达量最高,其次是脾脏和脑等组织。这一结果 与其他物种中的fbxo32基因表达谱非常相似。比如 在哺乳动物中,fbox32主要在心肌和骨骼肌细胞中 表达<sup>[3]</sup>,在虹鳟<sup>[7]</sup>和大西洋鲑Salmo salar<sup>[12]</sup>中, fbxo32也是在各种组织中广泛表达,并且相对而言, 在肌肉中表达量较高。另外,有研究报道fbxo32在 卵巢癌和食管鳞状细胞癌中发生了表观遗传学沉 默, 而重启fbxo32的表达则可以抑制卵巢癌细胞的 增殖<sup>[13, 14]</sup>,这暗示着 fbxo32基因不仅在哺乳类和鱼 类的肌肉和心脏中起着蛋白质降解的作用<sup>[3,7,12]</sup>,在 调控动物卵巢(包括斑马鱼卵巢)的蛋白降解过程中 也发挥着重要的调控作用,而这还需要更进一步的 研究来验证。

值得注意的是,有许多文献证明了fbxo32能够 将特定蛋白质底物呈递给泛素分子<sup>[2,3]</sup>,并在使其 失活和对其进行标记后最终通过蛋白酶体进行降 解<sup>[15]</sup>。而在哺乳动物中,fbxo32的上调能够加快与 肌萎缩相关的蛋白质的分解代谢<sup>[3]</sup>。因此,在动物 中fbxo32的表达上调将会导致肌萎缩。而本研究发 现,在traf6<sup>-/-</sup>斑马鱼的肝脏中fbxo32表达量相比 traf6<sup>+/+</sup>斑马鱼肝脏上调了超过100倍,类似地,在发 生了各种萎缩症状的虹鳟、大西洋鲑和其他动物



图 4 fbxo32转录本在肝脏组织中的表达水平



通过原位杂交技术用fbxo32正义探针(A, D)和反义探针(B, E)检测了fbxo32转录本在突变型斑马鱼(traf6<sup>-/-</sup>)和野生型斑马鱼(traf6<sup>+/+</sup>)中的表达。A、B. traf6<sup>-/-</sup>斑马鱼肝脏切片; D、E. traf6<sup>+/+</sup>斑马鱼肝脏切片; C、F. 阳性信号局部放大图。fbxo32的信号已用黑色箭头标出。比例尺, 20 μm

The *fbxo*32 mRNA expression was examined by in situ hybridization on cryo-sections of livers in traf6 mutant (*traf6<sup>-/-</sup>*) and wildtype (*traf6<sup>+/+</sup>*) zebrafish with *fbxo*32 antisense (A, D) or sense probes (B, E). A, B. sections of *traf6<sup>-/-</sup>* zebrafish liver; D, E. sections of *traf6<sup>+/+</sup>* zebrafish liver; C, F. drawing of partial enlargement. Signals of *fbxo*32 mRNA were highlighted with black arrows. Scale bars, 20  $\mu$ m



图 5 fbxo32转录本在斑马鱼肝脏组织中的细胞定位

Fig. 5 The cellular distribution of *fbxo32* mRNA in zebrafish liver tissues

2月龄斑马鱼肝脏组织的横向切片,包括*traf*6<sup>一</sup>斑马鱼肝脏(A—C)和*traf*6<sup>++</sup>斑马鱼肝脏(D—F);紫色代表*fbxo*32转录本的信号;箭头指示的是肝脏细胞,其细胞核较圆;bc.血细胞,细胞核长且梭型;ld.肝脏细胞脂肪滴;比例尺,20μm

The transverse sections of 2-month-old zebrafish livers, including the  $traf6^{-/-}$  liver (A—C) and the  $traf6^{+/+}$  liver (D—F). The signals of *fbxo*32 mRNA were shown in purple. The arrows indicates the hepatocytes with round nuclear. bc, for blood cells with oral nuclear. ld, for the lipid droplets of hepatocytes. Scale bars, 20 µm

中也都观察到了fbxo32表达量的上调。另外,与野 生型斑马鱼肝脏相比,traf6突变体斑马鱼肝脏也表 现出了一些肝脏萎缩的症状,如肝脏组织结构形态 不规则和松散、肝脂肪滴缺失等。综上所述,我们 可以得出结论:斑马鱼traf6基因的缺失会导致 fbxo32转录本的上调和肝脏萎缩。这个结论与在哺 乳动物中的研究结果相近:在哺乳动物中fbxo32的 表达上调与骨骼肌的萎缩相关<sup>[16,17]</sup>。然而,要探明 traf6与fbxo32之间的调控机制还有待将来更深入的 研究。本研究首次发现了肝萎缩中fbxo32转录本的 上调,这一发现有助于进一步开展对fbxo32基因的 生理功能研究及阐明动物肝脏相关疾病发生的分 子机制。

#### 参考文献:

- Ho M S, Tsai P I, Chien C T. F-box proteins: the key to protein degradation [J]. *Journal of Biomedical Science*, 2006, 13(2): 181-191.
- [2] Gomes M D, Lecker S H, Jagoe R T, et al. Atrogin-1, a muscle-specific F-box protein highly expressed during muscle atrophy [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2001, 98(25): 14440-14445.
- Bodine S C, Latres E, Baumhueter S, *et al.* Identification of ubiquitin ligases required for skeletal muscle atrophy
   [J]. *Science*, 2001, **294**(5547): 1704-1708.
- [4] Sandri M, Sandri C, Gilbert A, *et al.* Foxo transcription factors induce the atrophy-related ubiquitin ligase atrogin-1 and cause skeletal muscle atrophy [J]. *Cell*, 2004, 117(3): 399-412.
- [5] Murdoch J D, Rostosky C M, Gowrisankaran S, et al. Endophilin-A deficiency induces the Foxo3a-Fbxo32 network in the brain and causes dysregulation of autophagy and the ubiquitin-proteasome system [J]. *Cell Reports*, 2016, **17**(4): 1071-1086.
- [6] Nakashima K, Ishida A, Katsumata M. Comparison of proteolytic-related gene expression in the skeletal muscles of layer and broiler chickens [J]. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 2009, **73**(8): 1869-1871.
- [7] Cleveland B M, Evenhuis J P. Molecular characterization of atrogin-1/F-box protein-32 (FBXO32) and F-box protein-25 (FBXO25) in rainbow trout (Oncorhynchus mykiss): Expression across tissues in response to feed deprivation [J]. Comparative Biochemistry & Physiology Part B Biochemistry & Molecular Biology, 2010, 157(3):

248-257.

- [8] Bühler A, Kustermann M, Bummer T, *et al.* Atrogin-1 deficiency leads to myopathy and heart failure in zebrafish
   [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2016, 17(2): 187.
- [9] Howe K, Clark M D, Torroja C F, *et al.* The zebrafish reference genome sequence and its relationship to the human genome [J]. *Nature*, 2013, **496**(7446): 498-503.
- [10] Lu J W, Ho Y J, Yang Y J, et al. Zebrafish as a disease model for studying human hepatocellular carcinoma [J]. *World Journal of Gastroenterology*, 2015, 21(42): 12042-12058.
- [11] Xu H, Li M, Gui J, *et al.* Cloning and expression of medaka dazl during embryogenesis and gametogenesis
   [J]. *Gene Expression Patterns*, 2007, 7(3): 332-338.
- [12] Tacchi L, Bickerdike R, Secombes C J, et al. Ubiquitin E3 ligase atrogin-1 (Fbox-32) in Atlantic salmon (Salmo salar): Sequence analysis, genomic structure and modulation of expression [J]. Comparative Biochemistry and Physiology. Part B, Biochemistry & Molecular Biology, 2010, 157(4): 364-373.
- [13] Guo W, Zhang M, Shen S, *et al.* Aberrant methylation and decreased expression of the TGF-β/Smad target gene FBXO32 in esophageal squamous cell carcinoma [J]. *Cancer*, 2014, **120**(16): 2412-2423.
- [14] Chou J L, Su H, Chen L, *et al.* Promoter hypermethylation of FBXO32, a novel TGF-β/SMAD4 target gene and tumor suppressor, is associated with poor prognosis in human ovarian cancer [J]. *Laboratory Investigation*, 2010, **90**(3): 414-425.
- [15] D'Azzo A, Bongiovanni A, Nastasi T. E3 Ubiquitin ligases as regulators of membrane protein trafficking and degradation [J]. *Traffic*, 2005, 6(6): 429-441.
- [16] Sacheck J M, Hyatt J P K, Raffaello A, et al. Rapid disuse and denervation atrophy involve transcriptional changes similar to those of muscle wasting during systemic diseases [J]. The FASEB Journal, 2007, 21(1): 140-155.
- [17] Zhang P, Chen X, Fan M. Signaling mechanisms involved in disuse atrophy [J]. *Medical Hypotheses*, 2007, 69(2): 310-321.
- [18] Kuang M, Liu W M, Yao J, et al. Molecular cloning, eukaryotic expression and function study of *ftr*56 from *Danio rerio* [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2020, 44(1): 20-25.
  [邝鸣, 刘院蒙, 姚健, 等. 斑马鱼*ftr*56基因克隆表达及功能研究 [J]. 水生生物学报, 2020, 44(1): 20-25.]

# THE EXPRESSION ANALYSIS OF *FBXO*32 GENE IN LIVER OF *TRAF*6 MUTANT ZEBRAFISH

WU Shi-Pei<sup>1, 2</sup>, OU Mi<sup>2</sup>, LI Kai-Bin<sup>2</sup>, XU Qiao-Qing<sup>1</sup> and XU Hong-Yan<sup>1, 2, 3</sup>

(1. College of Animal Sciences, Yangtze University, Jingzhou 434025, China; 2. Key Laboratory of Tropical & Subtropical Fishery Resource Application & Cultivation, Ministry of Agriculture, Pearl River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Guangzhou 510380, China; 3. Key Laboratory of Freshwater Fish Reproduction and Development, Ministry of Education, College of Fisheries, Southwest University, Chongqing 400715, China)

Abstract: *fbxo*32, a muscle-specific E3 ubiquitin ligase, can enhance protein degradation to associate with atrophy. Here, we found that *traf*6 mutant zebrafish liver *fbxo*32 mRNA level increased dramatically. To find out the role of *fbxo*32 in liver disease, we performed histological analysis of mutant and wildtype zebrafish liver. The result showed that the mutant liver exhibited apparent characteristics of liver atrophy, such as loose liver tissue structure, irregular arrangement and rare lipid droplets of the hepatocytes. The qRT-PCR result showed that *fbxo*32 mRNA was widely expressed in most tested tissues with the highest level in ovary and low level in liver of wildtype zebrafish. Especially, compared with the wildtype, the liver *fbxo*32 mRNA was elevated about 100 folds in the *traf*6 mutant. Additionally, *fbxo*32 mRNA was mainly distributed in hepatocytes based on *in situ* hybridization, but cannot be detected in blood cells. The signal of *fbxo*32 mRNA was much stronger in *traf*6 mutant liver. These findings indicate that the knockout of *traf*6 might induce the expression of *fbxo*32 mRNA in liver and result in liver developmental abnormality and atrophy.

Key words: Hepatic atrophy; fbxo32; traf6 mutant; In situ hybridization; Zebrafish

《水生生物学报》改版通知暨征稿函

尊敬的专家学者:

《水生生物学报》是由中国科学院水生生物研究所、中国海洋湖沼学会主办的水生生物学领域综合 性学术期刊。学报为中文核心期刊、中国科技核心期刊。学报1955年创刊至今已有60余年的发展历史, 一直遵循学术质量至上的办刊理念,报道了一批国内外领先的研究成果,凝聚了一批优秀的科学家,与 我国水生生物学共发展。

为进一步推进学科发展,提高论文时效性,《水生生物学报》拟于2022年1月起由双月刊改为单月 刊。学报现面向广大学者诚征稿件,征稿范围为水生态与环境、生物技术与渔业、生物多样性与资源等 方面的最新研究论文或综述。

投稿须知:

- 1. 请登录学报官方网站ssswxb.ihb.ac.cn进行投稿。
- 论文选题新颖,具有创新性,研究成果具有重要的科学意义;写作条理清晰,文字简练流畅,论 点明确,数据可靠。
- 3. 论文1万字以内,综述1万5千字以内,学报不接收第一作者或通信作者为学生的综述。

感谢您一直以来的大力支持! 欢迎您踊跃投稿!

《水生生物学报》编辑部 2021-08-05