

## 鳊脂蛋白脂酶和肝脂酶基因结构与组织表达

姚煜, 梁旭方, 李光照, 王琳, 刘秀霞

(暨南大学 生命科学技术学院, 广东 广州 510632)

**摘要:** 为了研究鳊(*Siniperca chuatsi*)脂蛋白脂酶(LPL)、肝脂酶(HL)基因结构与功能关系,首先采用RT-PCR及RACE法,克隆得到鳊肝脏LPL与HL基因cDNA全序列。鳊肝脏LPL基因cDNA全长为2 089 bp,其中开放阅读框(ORF)为1 548 bp,编码515个氨基酸。鳊HL基因cDNA全长为1 964 bp,其中ORF为1 494 bp,编码497个氨基酸。进化树分析显示,鳊LPL与HL基因与其他脊椎动物的LPL、HL基因各自聚集成簇。对鳊基因组进行PCR获得鳊LPL与HL全基因组DNA序列,与其他脊椎动物基因结构相似,鳊LPL基因由10个外显子和9个内含子组成,全长7 392 bp;鳊HL基因由9个外显子和8个内含子组成,全长8 837 bp。应用Genome Walker方法在鳊克隆得到一段长为1 071 bp的LPL和一段长为2 173 bp的HL基因5'侧翼区序列,并利用相关软件预测其中具有多个保守的顺式调控元件。组织表达研究显示与易患动脉粥样硬化的人类LPL不同,鳊LPL基因在所有被检测组织中均有表达:在脂肪组织中大量表达,其次是肝脏、脑、肠道、肌肉,在脾中表达量最低;而鳊HL基因的表达则与人类相似,只在肝脏中表达。本研究将为深入探讨机体脂质代谢调节机制以及LPL、HL在防治动脉粥样硬化中的作用奠定良好基础。[中国水产科学,2009,16(4):506-517]

**关键词:** 脂蛋白脂酶; 肝脂酶; cDNA序列; 基因结构; 5'调控区; 组织表达; 鳊

中图分类号: Q959

文献标识码: A

文章编号: 1005-8737-(2009)04-0506-12

脂酶是一种水溶性的酶,能水解甘油三酯、磷脂和胆固醇酯等一些非水溶性物质中的酯键,对食物中脂肪的吸收、平衡能量和血浆脂蛋白的代谢起着重要的作用。脂酶基因家族其成员包括脂蛋白脂酶(LPL)、肝脂酶(HL)、胰脂酶(PL)和内皮脂酶(EL)<sup>[1-2]</sup>等。这些脂酶之间虽然结构相似,但在脂质代谢过程中具有不同功能。LPL生理功能是催化乳糜微粒(CM)和极低密度脂蛋白(VLDL)核心的甘油三酯(TG)分解为甘油和脂肪酸,以供组织氧化供能和贮存;LPL还参与VLDL和高密度脂蛋白(HDL)之间的载脂蛋白和磷脂的转换,ApoC-II为其必需的辅因子。HL主要催化CM、VLDL代谢残粒及HDL中的TG和磷脂的代谢。其中LPL与HL是血循环中与内源性甘油三酯代谢有关的2种关键酶,此2种酶活性的降低,

可引起高脂血症。LPL、HL与动脉粥样硬化的发生发展有密切关系,这是近十几年来心血管领域研究的热点问题,动物模型发现LPL及HL活性的降低与脂肪肝有关<sup>[3-4]</sup>。

与哺乳类动物习惯于利用糖类不同,鱼类优先并大量使用脂类作为能源,因此是研究脂质代谢的理想实验材料<sup>[5]</sup>。鳊是中国特有的一种经济价值极高且很有发展前途的淡水养殖物种,通过对鳊脂酶基因结构与功能的研究,构建饲养动物模型,进一步调控鱼类脂质代谢,可以减少脂肪肝的发生,促进鱼类健康生长。鱼类缺乏皮下脂肪层,其主要脂肪蓄积部位是腹腔肠系膜脂肪组织、肝脏及肌肉。由于肝脏是动物脂肪酸 $\beta$ -氧化代谢的重要部位,因而它是鱼类随营养状况而改变脂肪蓄积的主要调节性贮脂器官<sup>[6]</sup>。早期对

收稿日期: 2008-12-10; 修订日期: 2009-03-16.

基金项目: 广东省海洋渔业科技推广专项资助项目(A200899D02); 广东省自然科学基金资助项目(031886,980702).

作者简介: 姚煜(1986-),女,硕士研究生,主要从事动物遗传工程研究. E-mail: shinerow@126.com

通讯作者: 梁旭方. Tel: 020-85221497; E-mail: tliangxf@jnu.edu.cn

虹鳊(*Oncorhynchus mykiss*)、真鲷(*Pagrus major*)等研究显示,与哺乳动物不同之处在于,鱼类成体肝脏脂质普遍含量高,并存在LPL活性<sup>[7-8]</sup>。然而,对淡水鱼类LPL基因结构和功能的关系及组织表达研究还鲜见报道。与LPL相比,目前对哺乳动物HL基因结构和功能研究数据更少,对淡水鱼类HL基因结构和功能关系以及组织表达研究尚未见报道。本研究侧重探讨淡水鱼鳊LPL、HL基因结构与功能的关系,旨在为深入研究探讨机体脂代谢调节机制以及LPL、HL在防治动脉粥样硬化中的作用奠定良好基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验鱼

鳊5尾,体质量( $500 \pm 10$ ) g,全长15~17 cm,捕自广州南海鳊鱼养殖池塘。

### 1.2 总RNA提取和cDNA第一链的合成

鳊捕获后立即分离其肝脏、肠道、脾脏、脂肪、肌肉和大脑组织,总RNA的提取与纯化按Promega公司的SV Total RNA Isolation System试剂盒推荐方法进行。cDNA第一链的合成使用TOYOBO ReverTra Ace- $\alpha$ -<sup>TM</sup>试剂盒,以总RNA为模板,oligo(dT)<sub>18</sub>为反转录引物,按试剂盒推荐方法进行。

### 1.3 鳊肝脏LPL、HL基因cDNA全序列的克隆

根据已知脊椎动物LPL和HL氨基酸序列的保守区域分别设计2对简并引物:LPL01F、LPL02R和HL01F、HL02R(表1),预期PCR产物片段大小分别为591 bp、1 068 bp。以鳊肝脏cDNA为模板,用Taq DNA聚合酶(Takara)进行PCR扩增,扩增条件为:94℃预变性3 min,94℃ 1 min,40℃ 1 min,72℃ 1 min,共30个循环,最后72℃延伸5 min。根据克隆得到的鳊LPL和HL的cDNA核心片段及试剂盒的要求分别设计5' RACE反转录引物LPL5' RT和HL5' RT;PCR特异引物LPL5' S1和LPL5' S2、LPL5' A1和LPL5' A2;HL5' S1和HL5' S2、HL5' A1和HL5' A2(表1)。5' RACE的操作按试剂盒推荐方法进行。首次PCR所用引物为S1、A1,PCR反应条件为:94℃预变性3 min,随之94℃ 1 min,57℃ 1 min,72℃ 1 min,

25个循环,最后72℃延伸5 min。取首次扩增产物1  $\mu$ L,用S2、A2引物进行二次PCR扩增。

3' RACE的操作参照试剂盒推荐方法。首先以试剂盒提供的oligo dT-3sites Adaptor primer为引物进行反转录反应。然后以试剂盒提供的引物3sites Adaptor primer分别与LPL3' S1、HL3' S1(表1)进行首次PCR反应,反应条件为:94℃预变性3 min,94℃ 1 min,57℃ 1 min,72℃ 1 min,共30个循环,最后72℃延伸5 min;巢式PCR所用引物为3 sites Adaptor primer分别与LPL3' S2、HL3' S2(表1)。

### 1.4 鳊LPL和HL基因内含子序列及5'侧翼序列克隆

鳊血液基因组DNA的提取采用QIAGEN Blood and Cell Culture DNA kit(QIAGEN),按试剂盒推荐的方法进行操作。以鳊肝脏LPL、HL基因cDNA序列分别与人、小鼠的序列进行比较,从而推测出内含子的位置并设计特异引物用于克隆鳊LPL、HL基因内含子序列。PCR反应以鳊基因组DNA为模板,反应条件为:94℃预变性3 min,94℃ 1 min,57℃ 1 min,72℃ 2 min,共30个循环,最后72℃延伸5 min。

基因组步行法采用BD Genome Walker<sup>TM</sup> Universal Kit(Clontech),实验操作按试剂盒推荐方法进行。制备的基因组DNA(2.5  $\mu$ g)经Dra I、EcoR I酶切后与连接头连接。取1  $\mu$ L连接反应液以接头引物AP1、基因特异引物LPLGSP1或HLGSP1(表1)进行首次PCR反应,反应条件为:94℃预变性3 min,94℃ 1 min,57℃ 1 min,72℃ 2 min,共30个循环,最后72℃延伸5 min。将首次PCR产物稀释50倍,取1  $\mu$ L稀释液作为模板进行二次PCR,所用引物为AP2、LPLGSP2或HLGSP2(表1)。

### 1.5 PCR产物的克隆及序列分析

PCR产物经2%琼脂糖凝胶电泳纯化,H.Q.&Q. Gel Extraction Kit II(U-gene)回收后克隆至pMD 18-T载体(Takara),转化感受态*E.coli* JM109,利用M13正反引物,通过PCR反应检测得到阳性克隆,阳性克隆由博亚公司进行测序。序列同源性分析使用vector NTI suite 6.0软件;鳊鱼sGST基因5'侧翼区调控元件的预测使用TFBIND软件(<http://tfbind.ims.u-tokyo.ac.jp/>)<sup>[9]</sup>。

表1 PCR所用引物序列  
Tab. 1 Primer sequences for PCR

| 引物名称 Primer | 引物序列 Sequence                                          |
|-------------|--------------------------------------------------------|
| LPL01F      | 5'-CCAAGACCTTCATAGTGAT (T/C) CA (T/C) GG (C/A) TGG-3'  |
| LPL02R      | 5'-GCCTGGCTGGAAGGTGCCTCC (G/A) TT (C/G) GG (G/A) TA-3' |
| HL01F       | 5'-CTTCCTCTGGCTATCATCAT (C/T) CA (T/C) GG (G/C) TGG-3' |
| HL02R       | 5'-GGTCTTAACTGTGTTCCACAT (A/G) TT (G/A/C/T) GCCCA-3'   |
| LPL5' RT    | 5'-(P) CAGATGAATCCTCTC-3'                              |
| LPL5' S1    | 5'-CAATGTGATCGTGGTGGACT-3'                             |
| LPL5' S2    | 5'-ACCTCTGCAGCCTACACCA-3'                              |
| LPL5' A1    | 5'-TCGTAGAGAGCAGACACCA-3'                              |
| LPL5' A2    | 5'-GCTCTCGAAGATCCCTGTTA-3'                             |
| HL5' RT     | 5'-(P) CTTCCAATCTTCTCC-3'                              |
| HL5' S1     | 5'-AAGACATAGCTCACCTGC-3'                               |
| HL5' S2     | 5'-GTCACCTCAGGTACACTA-3'                               |
| HL5' A1     | 5'-GGTAGTGCTGGTGAGCCA-3'                               |
| HL5' A2     | 5'-ACAGCCAGTCGGTAATCA-3'                               |
| LPL3' S1    | 5'-ACGTCCTGCACACCAACA-3'                               |
| LPL3' S2    | 5'-CACCAAGATGTACCTCAAGA-3'                             |
| HL3' S1     | 5'-CCCATCACTGTCACTGAA-3'                               |
| HL3' S2     | 5'-TCACCTTCCTGATCACCCCT-3'                             |
| LPLGSP1     | 5'-ACACAGTGGTGGTGGGTTACAGGTCA-3'                       |
| LPLGSP2     | 5'-AAGTTCTCTGGATGTCCGTCGAC-3'                          |
| HLGSP1      | 5'-TGAACCAACACTTCTCCACAGGTGA-3'                        |
| HLGSP2      | 5'-GGGAAATGCAGGTAATGTAGAGTTTG-3'                       |
| DLPL01F     | 5'-ATCATCAGCTGGTCAGACTGG-3'                            |
| DLPL02R     | 5'-TTGAGGAGAGACAGGAGAGAG-3'                            |
| DHL01F      | 5'-CCCATCACTGTCACTGAA-3'                               |
| DHL02R      | 5'-CTTCCCAGGGTTCAATTCTCC-3'                            |
| DACT01F     | 5'-CGTGACATCAAGGAGAAGC-3'                              |
| DACT02R     | 5'-TCTGCTGGAAGGTGGACAG-3'                              |

## 1.6 鳊LPL、HL基因的组织表达

以 $\beta$ -肌动蛋白为外参照,用半定量PCR方法比较鳊肝脏、肠道、脾脏、脂肪、肌肉和脑的LPL、HL基因mRNA相对表达水平。根据鳊LPL、HL基因cDNA核心序列设计特异引物DLPL01F、DLPL02R、DHL01F和DHL02R(表1),根据已发表的鳊 $\beta$ -肌动蛋白(GenBank: AB037865)设计特异引物DACT01F和DACT02R(表1)。PCR反应条件为94℃预变性3 min,94℃1 min,57℃1 min,72℃1 min,共30个循环,最后72℃延伸5 min。对于不同基因的PCR反应,cDNA模板稀释成不同浓度以使之在指数增长期内终止反应。PCR产物经2%琼脂糖凝胶电泳和溴化乙锭染色后用凝胶成像系统及相关软件(AlphaImaget, Alpha Inotech, USA)进行分析,结果以LPL、HL与 $\beta$ -肌动蛋白mRNA的RT-PCR产物亮度之比(%)表示。

## 1.7 统计分析

采用统计分析软件SPSS 10.0对鳊各组织LPL、HL基因mRNA组成型表达水平平均值差异进行统计分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 鳊肝脏LPL、HL基因cDNA全序列的克隆与分析

通过对克隆的序列进行拼接,得到鳊肝脏LPL基因cDNA全长为2 089 bp(GenBank: FJ811962),其中5'非翻译区(5'-UTR)为111 bp,3'非翻译区(3'-UTR)为430 bp,开放阅读框(ORF)为1548 bp,编码515个氨基酸,构成一个含有23个氨基酸信号肽的蛋白质,推测的蛋白质分子量为58.3 kD(图1)。鳊肝脏HL基因cDNA全长为1 964 bp(GenBank: FJ811963),其中5'非翻译区(5'-UTR)为149 bp,3'非翻

|      |                                                                                                |      |
|------|------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 1    | CTTCTATCCGGTCTCTGTGTTTTAAAAATACACGATTGGATACAAAACCTGGTCGACCGACATCCAGAGAACTTTTCATTCCAGGATATTT    | 90   |
| 91   | TTAGTAAAAAAATTTCAATAATATGGGAAAAAGAAAATCTGTTTTTAAACAGTTTGGATAATTTTGGGAAAAATCTTTGCAACTTTTT       | 180  |
| 181  | CTTCTGACCTGAACCCACCACCACTGTGTTTGGtaagaaagacctatcagtatgttcgccttgtgataacttatttggcaggatattat      | 270  |
| 271  | tttcatgattcatttctaagaataacatatgcggaagcaggtaaatcaagctgtgcgtttccgtgttgaccgggagtaacccccgtga       | 360  |
| 361  | aacgctttcagagctcaggctcgcaggctcgcacccatttcataccattcatgtccatgtgcgcatgaagaaaagctgttgcacaggc       | 450  |
| 451  | cttttctgtcgtgaaagaaaaagggaagaaacattcaacagtagaaaaagatttttagtatttttaattcaaaataaattctcatttaa      | 540  |
| 541  | tatagaggttaacatgtaaaaatgtattgtttaattagaagaacatcacctcctttttaatgacattctccacttaaaacatttagct       | 630  |
| 631  | ttatttgatttttgaaaaacattacaaaacaggactcactgaaagaattcaattagtttagagtttttttttatttaggaatccagggt      | 720  |
| 721  | tttttatattatattattattatcaaatattttgagggtttatttcaatttaagtctgggtgaatacagctgcagacaaaaggggcgacac    | 810  |
| 811  | tgccatgctctatgattctacttggtgactgagacacactggtagagtagtggtcacttaataaaaagagaagacaaagggttttg         | 900  |
| 901  | taatttgcataaaaaagtttgttgtttaaatttcagctgtgtttattttgtctctctgtaaatgatttttgatgacacagcttcctcaaat    | 990  |
| 991  | tgcctgccttattgttgatggatgacatagaactggagggtgtaataattataaatttaatttaattagaatgtacctgcagaaacattga    | 1080 |
| 1081 | ttgtgcatgcaaacacattctgtcataccatgataatcctaataatggactgcatactgtttgtgtgtgtgtgtaaacagTAAACACCA      | 1170 |
| 1171 | CAGTCACTGCTACTCCCTGCTAACTACTGCTGAATGGATCACAGACTACACTGACATTGTGTCCAAGTTCTCCCTGGCGCACAGGGGACA     | 1260 |
| 1261 | TCCAGATGATGACATGTGCTACATTGTGGCGCGCAGGCGAGAACCATCAAGGAGTGGCAATTCAACTCAGAAACACAGACCTATTG         | 1350 |
| 1351 | TGATACATGGCTGGACGgtatgtcagacttttatgtaaaagtgtcatcagcatgcaaaaatcatattaaaatcacatgtgtcgtagatttc    | 1440 |
| 1441 | tgtatttagtcttagattagttctatcttatgggtgcctcatttgttagttaagtatctatttgtgtaagtgcagtaggtaattgtgcaca    | 1530 |
| 1531 | gtttctctcttatgccccactggctctgagatactgatgtagtagaaattatttcacaaatatcagttgaaataatgcataaaaatggta     | 1620 |
| 1621 | tgttgcatggacatacaatagacagagtttgagctcgcgaatgcaatgtgaaataacaaactgatcataaatttagcccaataccaa        | 1710 |
| 1711 | attgatgagcatctgtgcagatttgtgtgacaaacacaaataaacacatttcagagcaaacgggctgagagcagtagtagtctct          | 1800 |
| 1801 | gcaacacagcttatgcatcctcctccataatgtgatttagagccagctcatgcaacaagatttgaacctgagggctccttggtctctcca     | 1890 |
| 1891 | ggacacagaaggaataaaattatgctatactgcagctgaccgccagaatgtgtgcgctcttgtgtgtgtgtgtatttagTAAACAGG        | 1980 |
| 1981 | GATGTCGAGAGCTGGGTGCCACCTGGTGTCTGCTCTACGAGCGTGAGCCAGGCCAATGTGATCGTGGTGGACTGGCTGACCCG            | 2070 |
| 2071 | CGCAACACAGCACTACCCGACCTCTGCAGCCTACACAACTAGTGGGCGCGACGTGCGCAAGTTTGTACTTGGATACAAGtgagtg          | 2160 |
| 2161 | tttcatgaaacagtatccagctggatcatatttctcacatcctctttgttaacaagtgagttggcctctctgcctttgggtgatcaaat      | 2250 |
| 2251 | tatcacgcgaagaaattagacagcaggtgaatttgtgacaaatttgtagctgacgatcatgtttttgtaccagcgtgtgtgtgc           | 2340 |
| 2341 | ggatatgtttgcctactggttatgattttaaacgccctataaaggcgttttatagccctgtctgtggtcagacagcctctcagtgcaa       | 2430 |
| 2431 | ggctcagtattttagtggagactaaaggggtattcatttgtttgctccttgtttacatgacttccaagtttaaaccttgaataatttttggc   | 2520 |
| 2521 | aaagcataaaaattacacaaattaatccttgtcttggtattgtgccagactctgttaagacttgaacagagtgctgcagtgctttgccat     | 2610 |
| 2611 | ggatagcctcattattttttaaaccctccagcaagctgtcaggattcactctaaactcttttgaggcatgtcaaatgttctctggaa        | 2700 |
| 2701 | catctcaccactacccectttcagAAGAGCTGCAAGTTGCCCTGGGAGGAGTTCATCTGCTGGTTACAGTCTGGGACACATCTGG          | 2790 |
| 2791 | CTGGAATCGCTGGAGACCTCACTGATCATAAAAATCAGCAGGATCACAGgtgagaacataaacttaaccaacagatcatcatctgcttaga    | 2880 |
| 2881 | ttaacagtaaacattatgagcacatatatttaattgattattggctgaagagcagtttattttattttgattagctgtgttatgattg       | 2970 |
| 2971 | attacaatagaagatttaactgaaggtgaattctgcttaatacagcgcagtggttgctcctcctctatacgtgtatcaatccaattatga     | 3060 |
| 3061 | ccacatgtatgtactcagctataagcattttggtctatttgatagacacttttaatatgttaatctaaatttagtctctgagccaatg       | 3150 |
| 3151 | aattcatgcatgcaaacataccataacataatgtaatatatggccatttcttccagccctgtgcacacacagcgcaacattgaaata        | 3240 |
| 3241 | tgatctgcgccattcttttcggggcccgattgaatgtgtgcgtgtagcagctgcgtcagttagtggttccaatccccctttg             | 3330 |
| 3331 | tcaattatgaagtttatccaactttgaanaattccctaacctgcttagaataaacggtatgttttactgtgactgaggcaagagcccaatag   | 3420 |
| 3421 | aaacacaactcactgctttgcatgttctgagcttcagtggttctgcagagctgcacgtggaaaaatttagtccaaatgaacacatact       | 3510 |
| 3511 | caaaagtgtaatgtacactttttatggtagatcagtcacatagacgtgatcatcaaaagacactctttctgctgtatgtgtcttta         | 3600 |
| 3601 | tctacacactctttcttttggagaactgtgcacagtaacaaactaattcttccaaaagtgaacaaacaaagcaccacttttgccctcact     | 3690 |
| 3691 | ctctttttttcagGCTCGGATCTGCTGGTCCCACTTTTCAGCATGCGGACACACAGGACACTGTGTCCAAAGACAGCGCCAGTTGTG        | 3780 |
| 3781 | GACGTCCTGCACCAACACCCAGGGGCTCCCCGACCCGACGATCGGCATCCAGAGACCCGTGGGCCACATCGACATTACCCCAATGGA        | 3870 |
| 3871 | GGCACTTTCCAGCCGGGCTCGACATCCAGAATACATTGCTGGGTATCGCAATAAAAGGCATCAAGGGACTCCAAAgtagtactcaaaa       | 3960 |
| 3961 | tactcactcctattcattctcactgcactctgcttaagatgatgctttgggtttggtttcaatttgtatactgttgatgatgtgtt         | 4050 |
| 4051 | gcaagcacttactcgggtgcagtaagtacagctcagggtggagctacacttcaactagatgactggattcactcagctgtgtgtgct        | 4140 |
| 4141 | catctgcccattattattagactcactggccagtaagtgtgtctaaagttagctataggccagatttagggagaaaaatcatctccacctc    | 4230 |
| 4231 | atctgtgtcacagctgcactataataacacactcttgcaccaattaaagtgaagaatttgcaacaacagtggtgttaaatcatcaagata     | 4320 |
| 4321 | ggccttgttaagttaaacatgggtgtcaacagacactttgactctataaaagcttccagggtcacaattataatatttttctccagctga     | 4410 |
| 4411 | taacagacagatttcacagtatgtcacagttcatgttctgtttgttggagatgaagagcttttgagatgaaggttttgcgtgttaccctc     | 4500 |
| 4501 | tcagttgttataatgtgtataagtttttaactgagcaagacagaactaagtgaagaattgtgatctgggtcagcatttagtcggacactg     | 4590 |
| 4591 | atatacaagagctcttaaaagccacacatgaggaagacattttctctgtgcatgacatcatctgagagaagacacagaggttttaccac      | 4680 |
| 4681 | ttctgtactctctgtgtgtctgacATATGGACCACTGCTCAAAATGTTCCCAAGAGCGCTCCATCCACCTGTTCATCGACTCTTCTGCTGA    | 4770 |
| 4771 | ACACTCAGCAGCAGAGCATGGCTACCGCTGCAACTCCAAGAGGCGCTTTAAACAGGGTCTGTGCTCAGCTGCAGAAAGAACCGCTGCA       | 4860 |
| 4861 | ACAAGCTTGGCTACAACATCAACAGGTCGCGAGGCGCCGACGACCAAGATGTACTCAAGCCCGTGAATGATGCTTACAAAGcta           | 4950 |
| 4951 | aacatcaggaaaaaaggacatgtagagagcatttttaggtttttgttctgtacaaatgcaagaaaagagaagaaatacatattgaatt       | 5040 |
| 5041 | gtagaataatgtcgtggtgggtttatgtacttttagtgaggatttagtgagagtttaatttatgcataaccttaactggagtaactcctcagtg | 5130 |
| 5231 | atgagctactgtgttaagtacttaattgtggatgtgactgctttgagctggaataataatcagtatcagtagcagtttagtgggaactc      | 5220 |
| 5221 | ttaatgcagacagacatggtcaacaagtagcaagttatcaggaggtcacatgaagaagaggtcatgggtatttttagtttaaggttaagta    | 5310 |
| 5311 | acaccctgcctgcatgtgatacactagcaatggaaagtttatttaagaattacaatttggcagaagctctttttgtcagacattttgtg      | 5400 |
| 5401 | aaggatgttcaaatgcatgttgaagaatgagtagtttagtaaatggctatttattgtagtaataatataataggggtgtgtgaatga        | 5490 |
| 5491 | agccaacccgggttttagcacagactctgtgtttaaattgcagcactgtcacatgaagacagagagatcaagggtacataaaggcctttctc   | 5580 |
| 5581 | agttataaactgcttttaaatagtgctgtgagagatgttggccagttgttgggaacagctcaagctgtgagagagtggttccaaagtgta     | 5670 |
| 5671 | cagctgtctgtttctctctctcagTTTTCCACTATCAAGTGAAGGTGCATTCTTCAGCAAGGACCAACTGAGCTTCACGAGCAGCCA        | 5760 |
| 5761 | ATGAAGATTTCTTGTATGGAACCAAGGAGAGAAGGAGGACATTTCCTTCGTCCTgtacgtacattaaatagtcacaaattttcatccat      | 5850 |
| 5851 | catgtgaaatttaaaaacacacacacatgggtgtggagattacaagaaaaagtaaacagatgggtcagcaacagtggttccatttaccctg    | 5940 |
| 5941 | cctctaaataaagaccataaaggcactcgtgctgcatacatcacacacatactacgtatgctttattgttccattgtagaggacagtcaca    | 6030 |
| 6031 | atctgagcagctgagccttgaacattgttcatggtcagcaacagtggttccatttaccctgctcctcaataaagaccataaaggcactcgt    | 6120 |
| 6121 | tgtgcatacatcacacacatactacgtatgcttattgttccatgtagaggacagctccaactgagcagctgagctttgaacattgtt        | 6210 |
| 6211 | ctctcttccacctgcagGCGGTCCTGAACGGTAACCACTTTGCTCTCTCATCACCCGATGTGGACATTGGAGACCTGATGAT             | 6300 |
| 6301 | TGTGAAGCTGCGCTGGGAGAGGATGCAATCATCAGCTGGTCAGACTGTGGGGCAGCAGCAAGTTCACATCCGCAAACTGCGCATCAA        | 6390 |
| 6391 | GTCTGGGGAGACCCAGTCCAAgtaagttcttagtcaccacacaaagatatgatcatctggaaataactagaatagatccagtggttcatt     | 6480 |
| 6481 | atgtaactcagactgggtgactttttatttttcttctcagtttactttacttttaaaatttttttactgtgtgattccagGCTGATCTTC     | 6570 |
| 6571 | AGTGCCAAAGGAAGGAGAGTTTGTGCACCTCGTCAGGGGAGGAGAATATGGAGTCTTTGTCAAGTCAAAAGAAAGACCAATGAGCCGTAAA    | 6660 |
| 6661 | GAGAAATtgtaagttgaagagaagcttcccttataaggagcttggaggtgccatctgaataataattactccttagtggttatttattg      | 6750 |
| 6751 | tcagttattcattgatgcatttcaaaatcatcgataaaatgactgattccatttaccatttgaattatgctattttaaataactattttaa    | 6840 |
| 6841 | aaaaaatcaagtttaactacagactccatacattgtctcctctgatacatttgattcactgtgtcttttcttcttccagGTGATGACAA      | 6930 |
| 6931 | CTCAGAGATGCAAGGCGAGTCTTTTGGCCGAGAACGCGCTGAAGTTGCACACAGCAACACCCGCCCATCATGCACATCAGCCATCTTAA      | 7020 |
| 7021 | GATCATATGCCAAAGACAGACAGCACAGCAACACAGACAGCACAGCAACACTGGGAGAGCCTTTGCAAGTACCTGGACATTTAC           | 7110 |
| 7111 | TGAATGCTGCGTTTTTCTGATTTTCTCTGTTGTGGCTCATGACTTCAGCTCTCAGTGCAACCAACACAACCTCTCCACAGTGTGGA         | 7200 |
| 7201 | AATCTACAGCTGAGTCTCTCTCTCTCTCAATTCGTCTACTGAAAAATGTTACAGTTCTTTGTGATGATGTGCTCACATTGA              | 7290 |
| 7291 | CAAAATTTACACCTCAGTAGCTTTTGTGTCATATCTTGTAAATCTTGTGTTTGTAGCCTATATGTACTGCTAATACTGACTT             | 7380 |
| 7381 | TGATGTATTTTCG                                                                                  | 7392 |

图1 鳊 LPL 基因序列及内含子序列

Fig. 1 *Siniperca chuatsi* LPL gene sequence and introns sequence

译区(3'-UTR)为321 bp, 开放阅读框(ORF)为1 494 bp, 编码497个氨基酸, 构成一个含有19个氨基酸信号肽的蛋白质, 推测的蛋白质分子量为56.3 kD(图2)。鳊与金头鲷、虹鳟和真鲷LPL氨基酸序列同源性很高(72.2%~91.8%), 与斑马鱼LPL氨基酸序列同源性为68.3%, 与高等脊椎动物(如人、大鼠、小鼠和鸡)相比, 同源性也较高(53.8%~56.9%)。鳊肝脏HL基因cDNA全长为1 964 bp (GenBank: FJ811963), 其中5'非翻译区(5'-UTR)为149 bp, 3'非翻译区(3'-UTR)为321 bp, 开放阅读框(ORF)为1 494 bp, 编码497个氨基酸, 构成一个含有19个氨基酸信号肽的蛋白质, 推测的蛋白质分子量为56.3 kD。鳊与斑马鱼HL氨基酸序列同源性为61.8%, 与真鲷HL氨基酸序列同源性为86.9%, 与哺乳动物(如人、大鼠和小鼠)同源性为49.2%~51.5%(图3)。

## 2.2 鳊LPL、HL基因序列及5'侧翼区序列克隆及结构分析

根据鳊肝脏LPL、HL基因cDNA序列设计特异引物, 以鳊基因组为模板进行PCR克隆得到鳊LPL、HL基因所有内含子序列, 再与原有序列进行拼接获得了鳊LPL、HL全基因组DNA序列, 与其他脊椎动物基因结构相似, 鳊LPL基因由10个外显子和9个内含子组成, 全长7 392 bp; 鳊HL基因由9个外显子和8个内含子组成, 全长8 837 bp(图4)。

应用Genome Walker技术, 经过两轮PCR扩增, 分别得到一段LPL起始密码子ATG上游1 071 bp序列和HL起始密码子ATG上游2 173 bp序列。通过软件TFBIND (<http://tfbind.ims.u-tokyo.ac.jp/>) 推测出鳊LPL 5'侧翼区有多个保守的顺式调控元件(图5)。该区域中, 有典型的CAAT元件, GC盒, 在起始密码子ATG上游-214 bp、-231 bp和-595 bp处有AP-1元件。此外, 在-181 bp处有一段CATAAA序列。-247 bp处有一过氧化物酶体增殖物激活受体反应元件(PPRE)。-271 bp处有一甲状腺激素受体元件(TRE)。-346 bp和-558 bp处有2段调节LPL基因表达的GATA序列, 其核心保守序列为T/AGATAA。-549 bp、-695 bp处分别有Oct-1受体

元件、糖皮质激素受体元件(GRE)。-359 bp、-730 bp、-922 bp、-950 bp均发现胰岛素受体元件(IRE)。在-895 bp处有cAMP结合受体蛋白(CBP)元件(CREB), 保守序列为TGASSTCA。-441 bp、-907 bp和-1 007 bp处有多个保守序列为CCAAT的增强子结合蛋白 $\beta$ 结合位点(C/EBP- $\beta$ )(图5)。

鳊HL起始密码子ATG上游-245 bp和-277 bp处分别有典型的CAAT元件, GC盒。此外, 在-250 bp处有TATA框(CATAAA)。鳊HL基因的上游调节区存在的顺式反应元件有: TRE(-403 bp), CREB元件(-1 762 bp和-1 953 bp处), IRE(-496 bp、-631 bp、-737 bp、-755 bp、-1 180 bp和-2 108 bp处), C/EBP受体元件(-507 bp和-1 355 bp处), GRE(-607 bp处), Oct-1受体元件(-639 bp和-1 148 bp处), GATA(-790 bp、-940 bp和-1 242 bp处)和PPRE(-379 bp和-1 926 bp处)。另外, 在-872 bp和-1 398 bp处有2个保守的肝富集转录因子(HNF1)结合位点(图6)。

## 2.3 鳊LPL、HL基因系统进化树分析

为了比较鳊LPL、HL基因进化关系, 首先应用Clustal X1.81软件进行序列的对位排列, 并辅以人工校对, 利用Mega 3.1构建了脂肪酶基因系统进化树(图7)。如图所示, 所有的LPL序列, 包括硬骨鱼类、哺乳动物和鸡, 聚集成一簇, 而所有的HL聚集成另外一簇。

## 2.4 鳊LPL、HL的组织表达

以 $\beta$ -肌动蛋白为外参照研究鳊不同组织LPL、HL的基因表达水平。结果发现, 鳊LPL在所有被检测组织中均有表达: 在脂肪组织中大量表达; 其次是肝脏、脑、肠道、肌肉; 在脾中表达量最低。而HL基因只在肝脏中表达, 在脾、脂肪组织、肌肉、肠道和脑中未表达(图8)。

## 3 讨论

本研究成功克隆鳊LPL、HL全基因组DNA序列, LPL基因全长7 392 bp, 由10个外显子和9个内含子构成; HL基因全长8 837 bp, 由9个外显子和8

1 AAAAGAGTCTCTATAGCTGCAGACAAAGGATCTCCCTTCAAACCTCTACATTACCTGATTTCCTCCCACTAAAGATTTTAAACCTGTTC 90  
 91 TCATCACCTGTGGGAGAGTGTGGTTTCAAGGAATACCAAGGTGTCTGTTCGACACCA**ATG**CTGTGGTCAAGATCTGTGCTGCTGTC 180  
 181 TGTATACGTTACCTCAATGAGGGGAAGAAATCAAAAGAAACAGGACG**AGT**gagtgaaatgcatgttttaaatatccccgaaagtg 270  
 271 tgataaaagacatttggcataggttgactgctttatgaatggaataggaatgacaacacagtagacaatacatctgactggttga 360  
 361 cagtttggttatatattacataggtcttgaaattggtagattgaaacacacttacatgatgtcttcattagttcaaatgtgaaacacat 450  
 451 cacacccataaataattgtacacctcccaatcaacctgtctactgtcagttcatatttagtaatacatatcatgctcctggtagaca 540  
 541 gttttcaaacagcgggacaaactgcagttaaaaaattgggcttaaaccttttaacttgatttttccctcccaatttccctagaagt 630  
 631 ttatttaatttactatgaataattgcttattctttatctgaacctatcatgctgaatgaataattacataagacattaaagtttt 720  
 721 atggcctaaccgttacctcacacagaacatccaagtgcatgtgcagaatttttccacacatttcccttaaggacttttgggaactt 810  
 811 tggaaatctctctctcaaaattctataaaacttctgtggttagaanaagctcagctgcacaacattgtttgttaagatggagcc 900  
 901 tccagtgaggcacttcagagtccagagcaacaaactgcagcggccagcagtagcacacagctttggggtgtacactttcccttctcctg 990  
 991 tctatctcatgtgtgttcttttgaagactactgattcaaaagtattatgtatcaacaactcatcagcttctgtctataaaactac 1080  
 1081 agaaacacagagagcgtgttcagagtgcagatgagatcaactgatttctccactcttgtatgattataaaacacactttttttgttta 1170  
 1171 tgccttaagaaatgttgggtttttgggtcaggcaaaaccttttaactttttatcttatataattttatcttttaaccaac 1260  
 1261 tacaatggaaatggtaagacattctaaagcacttgttgtatctgttttaataaattgtattgattatcacacacattcatgtttgaatt 1350  
 1351 gaatggtgaatgattgttacaccacatacatattggtggcttttctgaaaataatagtagacagtaaccaaacagctgctgtcaaat 1440  
 1441 atgtgcacaggaagtaaatattgtgcacaaatagctgttctatttaaaagtcttcaaaactttttctctttgtcaaaactctgttaaat 1530  
 1531 tgggttttctactaagtttgttctgaataaactgtgaacaaactcactatgtaatttcataaccacaaagttttcccccacattcttgatc 1620  
 1621 tttgaattgtctcttgtatcttgggtgttttaattgggttaaaactctcacaataaaaaacaaatagatgaatagtagagagtaaaa 1710  
 1711 atcagttcttgagccacatggaaagtatcagtcagagcacactgcatgcaaacactgctgcaagtttcttttttatcatcaacattatt 1800  
 1801 gcagaaatcatattaaactaattacagctcagttctgtttactaatgagtcagactgttttaattgctctccatgttcatttggataaa 1890  
 1891 cagtcataacagtaaaagacacacaaagaaatgtgggatttaagcagcaggggtggatgagtagataatttactttcattact 1980  
 1981 caagggtctcatatcagcaaccagagctaatcagatggcaactgtatcactgagtttgaggcgctgagtttctggcatcatataact 2070  
 2071 aaaaattgtagaataaataatgctgcacatgaatcaatgtaaaaaacttaaaagaaatgaatgagatttcttggagatgatccta 2160  
 2161 taacgtttgtgtgagattcctgaggttctgggctgtggttttaaacatgttaaggaggaagagtttatataagaataacagaaga 2250  
 2251 agtctggcagagattcacttgatgagactgtgtgaagcgttatctgtgtcactgccaaaggggtctgcatgacctgaacacacaga 2340  
 2341 aaaaactctgaaggagcattagtcagctacagttccaatgggctcaacaggcagatttgaattctcaaaaacttctcttggat 2430  
 2431 agtccacctacagatgtttatagtttatgttaacatttcaacagcttatttagttgagactcaacaactgcttcaaaaatgaacacctt 2520  
 2521 tctgatattacacattgtgttaaggtttgtgttnggttaggcacaaaaaacactcttagttnggttatcatgaattgtcacatatac 2610  
 2611 tttatgaaattctacagcnaagcnaacaggttgacattgttaaaactctataaactctcttagggagcagatacaaaatgaagtgt 2700  
 2701 taactctcagataaactgtatcaatcaatgaatataaaactttctctgctcagttggaaactaaagtgaattcccatgctttattgt 2790  
 2791 taattatttccctaaagttaaacacatccagtagcgcagcatgttctaattgcagagttaactgaagaacacacagataactccactg 2880  
 2881 ttgtttgatttccag**AGT**GTAGCAGACACAGCAGAGGGGAGTCTGAAGGTGAAAGAGCAGTATGTGCAGAGTTCAGCCTTCAGGCTG 2970  
 2971 TTTAGAGAAGGTGAGGACGCTGCACACTGGACCTCTGCGACTGCACACTCTCACTCTCTGGCTTCAACAGCAGTAAATCCCTCATC 3060  
 3061 ATAATCACTACCGGGTGGTCT**G**taaggtcaacttttcttccactcactgactgaaccactggatcaaaaactggaaacttggaacatt 3150  
 3151 atggaggaattgtcgtgcatagttgcagatttaaatcatgttcaaaacttagagattgctgaataaacaacacataaagttaaacatt 3240  
 3241 gcagagactttctgaattggctgcagagactcatttaaatctgagatcagttacgatacaatttcttaactttcttcaacacattgtgt 3330  
 3331 tcaagtttaagtttattctggccatttcaacataatttcaacaattggtattgttttctc**AG**ATGGATGGTATGATGGAGAGCTGGGT 3420  
 3421 GCTCAGGTTAGCCACACCTGAAGACAACTCTAATAGACGTCACAGTGGTGGTATACCGACTGGCTGCTCCCTGGCTCACCAGCACTACCC 3510  
 3511 CACAGCTGCACAGAACCCCGCACTGTGGAAAAGACATAGCTCACTGCTGCAGTCACTTCA**G**tcaggsgaagtactactgaag 3600  
 3601 caacttgattttcagagccaatcatctatgacactgaagtaaaactgttaaattagtgcaatttttagtgcaatttttaagagcagctt 3690  
 3691 aaacacacagcagcttaccagatttaagtgtcaaaagctcttcaaatatgtacctgtcaaaactccaac**AG**TACACTACCACTAC 3780  
 3781 CACAGTTAGAAAGGCTCATTGATTGGCTATAGCCTTGGAGCTCAGCGCTGGATTGTCTGGAAGCTACCTGGAAGTTGGGAAGATT 3870  
 3871 GGAAGAATTAC**G**tgagtttttaccggatagggttaagtgtctataaattcactggccaaaacaaatgaattatgcaaaaagacatt 3960  
 3961 ttgttagatgaacttatataattctgttctgtcaaaaacttctgtctegattgtcttctgtatctgtctc**AG**TTCTCGATCCAGCGGGG 4050  
 1051 CACTGTTTAGAGGCTGTCTCCACAGACAGACTGTCTCTGACGATGCTGAATTGTGGATGCCATTACACCTTCACCACTGACGATGA 4140  
 1141 TGGGCTCAGTGTGGGCTACAGCAAGCTGTGGCATTATGACTTTTACCCCAACGGAGGAGACTTCCAACAGGATGTGACTGCATA 4230  
 1231 ACATTACAGGACATAGCGCACTACGGGCTCTCT**G**tcagataaaagaacacactgcaacacattagaaaattatgacaaaaatataca 4320  
 1320 gtagtattttactaggttaattgttctctggggaccataaaactcaaaactctgcaagtggtctccagagctgtaagtgtttattacac 4410  
 1411 cccaataccaaagtgtggagagaagaacattctctcttttttagtgcagtagtgcggctaaaaattgttagattgtgtgtaggctgga 4500  
 1501 ggaagaactcctagaattgtaaaaacaaaaattgttatctctggggaccatgaacatgctcagagaagtttatagttgttctatttatgt 4590  
 1591 gttttgatattttctgtgtcaaaattgaaagatttggcctctgtggtggtctataaaaggtcagggtgtctctaggtatgtcagccatt 4680  
 1681 agttttgcaatacttttagtaaaaactgacaattttttagcagatgaggtatagaagaagttccacaggtactgaaaaacattcaggtatt 4770  
 1771 caacttatgggaacatgaaaaactcctcaaaactttctggcaagcagtagattctataattgactaatctatatgtcttccactgtta 4860  
 1861 cagttctggctttagaagaactagaagtggaatttgaagattgcgagaagacatttaggtttcagtgatttcatcaaacctcttaa 4950  
 1951 caaacacaaaaaanaagattttagtgagatttttaacatttcaacaaaaatagtaaaaaaattagttcaaacattcaacaaacgc 5040  
 2041 agaacattacagttacttctcagggaacaaagttcattttgtgtttttaaggtcggattctggatattctttagtgatgaaagg 5130  
 2131 agttctttagtaggtcagtttctcctgctgaacacacatgccactcagcttcttggtaccctgtgtgccatttacaacacctgca 5220  
 2221 tctgaggagaanaatgcacaactccaatcagagcagttggctgctgcttaaccgcttactggtttgctcttccgttctctatcataa 5310  
 2311 catttttttttaaattggccttgcacactcaaaacactggtttagaagaataatcttgggcacaaactcattctttagttgtgacagt 5400  
 2401 ttttctgttctgtctcaggcagaatttaattcttccagttcaacaaaggttgggttttaggtgtcttcaactcaaaacacacat 5490  
 2491 ccacagactatgacagtgagagccaattaaagcattgtcattcctcagggttaattagcaacattgtccttctctgtctgtccatc 5580  
 2581 cctctgagctgagctcctcaggctcaaaaggtctactcagagaanaagccttcagatcagacaggtatcacataatgagatgcttt 5670  
 2671 taggaattgtgacgaagagcagctctgttagatgtcaggcttagtgatgaatgaagtcaatccnaaaatgaatgtcagacactatgatta 5760  
 2761 aggtactccaaactcctcaactccaaaggagaattgtgtgtggaattagctgttgaactcagattaaagttgttcaaatctcggc 5850  
 2851 tatataaatttccacattatttctgttccatccat**AG**TTTTGAGCAGACAGTGAATGTGCTATGAGCGGCTCCGTCCATCTATTAATT 5940  
 2941 GACTCTGTGCTGAATAAGACAAGCAGAGATAGCTACAGGTGCAGTGACAAAAGCGCTTTGACAGAGGTGTCTGTGGACTGTGCG 6030  
 3031 AAGAATCGCTGCAACACTGGGCTCAATAATCAAGAAGTTGCGAGTGGCACAGCAAGAGGCTCTACTGAAAACAGCTCTCGGATG 6120  
 3121 CCTTACAAAG**G**tgatagatgtccttatcattttaacaaaaagaccttaagatacatatattgtctctgatttatataactcagttta 6210  
 3211 taaacagtgctacatgtcttcttgaattcaataatttcaaaatataacagctagactgatcatgagatggatgcacaaagt 6300  
 3301 gatagtttagtttagtcaactcctcatgtactgtcctgtcgaatagtcactagagcacaacatttttaattactgccaactaaaaata 6390  
 3401 gtcccaacacataaataatgttaattgttcaataaaactacagtgccaagctatttcaggaanaattagagccttttttttaaatgtaa 6480  
 3481 catatttgatgagattacattttagtaggaacaaatggaacaaactcagttggatggcttttctatcttcatctcttcttctgttt 6570  
 3571 ctggtctctctctctc**AG**TCTATTACCACTTCAGGATCCAGTTTGTCAACCAAGTGGAGGATCAAGCCCACTCTCACCATCTC 6660  
 3661 CTCTCTGGAACAAAGGAGGAGATGGAGACCTCCCATCACTGT**G**tgagtagtgaacactccccagcggctgcatatcatcacatc 6750  
 3751 tatgctcaactgtactcagttttgacacatgcaaatatgcagctgggctcacaacctataaagactgaagcgaagttaaggagagcagct 6840  
 3841 gacacacatggaacaaactggagctgctgcatgaagagaactataaattggggatgatggagtaataatttactcaagacatttccc 6930  
 3931 tgacaactgtctatccttcatgtcctgtgtatcaaaagacctggccttagaggaanaattcattgtgtgtattgtcttctgtcttct 7020  
 4021 gtaataaanaagttgctgttgcagagatgccacagatgtaataacttaactttgtgtgtttgttttggcttcttctttaa**AG**C 7110  
 4111 ACTGAACGATTTCGGGTAATAAGACCTTCACCTTCTGATCACCTGGACAGAGACTAGGGGATCTGATGTGCTCAAATTGCACTGG 7200  
 4201 GAGGATCAGCTCTGTGGAAGAACATGTGGAACCGGCTGCAGACCATCTTCCTCGGGCAGCCGAATGAGAAACCACTGCTGACTGTG 7290  
 4291 GGCAGATCAGGCTCAAGCAGCGGAGACCGAGAG**G**tgacagctctatgttacaagagcagcagtggttgggaagtattcagatgttc 7380  
 4381 tcaagttagcaattaccctaatgttaaaatacccatataaagtaaaagtctcatatcatcatttcaaaattgtcaagttcagaagtatt 7470  
 4471 tatcaacaaaaaataatcagtagtaaaagtataaaaaataaaagtacccttaagtcagacattggctccttcaagatttttactgtatatt 7560  
 4561 attatataatttcagtagctggatcatttactgtcgttaagaatgaagcagcattttaaattgtgtagctggtaaaataataaata 7650  
 4651 taatcataaataactgtttagattttaaactatgttctttttgagaatgcacacacagcaaaagcgcagatgagttgagctgagac 7740  
 4741 acaagttcatcaaaatataaaacatacacaaacttctcatcacacacatacactgcttatttcccaaatgttggcctacttggccta 7830  
 4831 attgggggtgtagatgaggtcttccagtttcttttcatataatagtcgaatgactacagataatagaacacaaagatataaggca 7920  
 4921 cattttaacattcttttccataaattcaggtgtaagaaatctatatactactactgagatgtagtgagcagaagatttagtgaact 8010  
 5011 ataaaatggaatagattcaagtatactcaaaactgtacttaagtacagtagatgagtaactaccacattgtattgtccctgtc 8100  
 5101 caatgacttagtaagtattgtataaaacttactaattattgtaagtattgcaattttagtatacaacaaataaacattcaataaanaata 8190  
 5191 aatgtactgtttttaaagatacaataacatttgcagttgccgctcttgacagcagaaaacacttcaacattctatactcagagact 8280  
 5281 ttaagtccacactagtgattgttcccaacacagaatttgaatcatttatcatcatgagctgaccactctctgtacacttacttctc 8370  
 5371 gtttaaacagacattgtcaacacatttctgttctt**AG**CACATCTTTTGTGTGATGACAAATGACGGACACATGTTGAAGTGT 8460  
 5461 GCGAGGATAAAGTTTGTGGCTGTAAAAAGACACACAAACAGCAGAGAAGGAAGCACACCA**ATG**ACTGGTGGGTGCTCTTAA 8550  
 5551 TATGTTCAACAGACTGAAGATCTCTGATGGGTGACCGCAATTTCAACACTGGATGAATTTTGAACCTCTCAAGTAGGCGGTGCA 8640  
 5641 GATTGGGAGTAATTAAGAAGTAAATTTGATGAAGATGTGGCACTGAACAAATAGTTAAAGTTTAAAGGAAATGAACCT 8730  
 5731 GGAAGCTGAGGCTAGTTTACTATTGTAACCTGTGTTACAAATTACAGGAACATGTTTAAAGTTGATTATGTGATCAAGTAAATAA 8820  
 5821 ACTAAGTATTGCATGGC 8837

图2 鳊HL基因序列及内含子序列

Fig. 2 *Siniperca chuatsi* HL gene sequence and introns sequence

*Siniperca chuatsi* LPL (cpLPL) is aligned with the LPL of human (hLPL), mouse (mLPL), rat (rLPL), chicken (cLPL), zebrafish (zLPL), rainbow trout (rtLPL), red sea bream (rsbLPL) and gilthead sea bream (gsbLPL). *Siniperca chuatsi* HL (cpHL) is aligned with HL of human (hHL), mouse (mHL), rat (rHL) and zebrafish (zHL). Putative signal peptides are underlined. Predicted N-linked glycosylation sites are shaded. Catalytic triad (#), conserved cysteine residue (⊕), putative lipid-binding region (dotted line), polypeptide “lid” (interrupted double line), and N-terminal domain and C-terminal domain (↓) are indicated. “\*” indicate identical residues. “+” indicate evolutionarily conserved residues. “-” indicate amino acid gaps that are necessary to align these sequences.

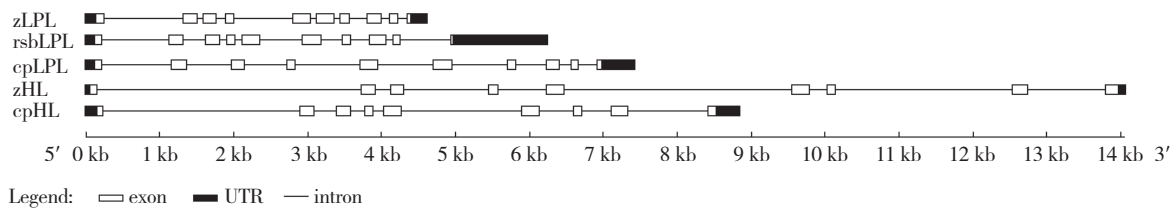


图4 鳊LPL、HL基因外显子内含子结构示意图

zLPL: 斑马鱼 LPL; rsbLPL: 真鲷 LPL; cpLPL: 鳊 LPL; zHL: 斑马鱼 HL; cpHL: 鳊 HL, 线代表内含子、黑色框代表不翻译外显子、空白框代表编码区

Fig. 4 Schematic representation of the exon-intron structure of *Siniperca chuatsi* LPL and HL gene

Upper pannel: zLPL, zebrafish LPL; rsbLPL, red sea bream LPL; cpLPL, *Siniperca chuatsi* LPL; zHL, zebrafish HL; cpHL, *Siniperca chuatsi* HL. Lines represent introns, solid boxes indicate untranslated exons and open boxes represent coding exons.

|     |                                                                                             |      |
|-----|---------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 1   | ATCTTAATCCAAATCTCAAATCCGGTTT                                                                | 90   |
|     | C/EBP                                                                                       |      |
| 91  | AAGACGAATGTATATCACGTTTAAAAACATGGAACCTTATCCTTTCCTATCAAAACATTATGTGGTATTAGGGTGTGACATCAGAGAAC   | 180  |
|     | IRE C/EBP CREB                                                                              |      |
| 181 | ATACTGTACAATAATATTGTGATGGAATAATCTAGGCTAGAAGTCAGTCTGTTTTATTGCCCGAAGTTTAGAGAGATAACAGAAATG     | 270  |
| 271 | TAAATATTTCGCACGCAGGTGTGTGGCATTAAATCATCAAAAATCCGACACATGGGCTCAGAAACATTCTCTCATGCTGTATCA        | 360  |
|     | IRE                                                                                         |      |
| 361 | TCCTCCATGTGTCTTTGATTTCGCTGGAGTTTTTGATCTTTCCGTTGCCCAAGTCCGCAAAAGGGTTAATATATCACTAACGGGG       | 450  |
|     | GRE                                                                                         |      |
| 451 | ACCATCTTTCTGCATTGATTACTGATTTAATGGTGATACTTTAAGTACATATTGCTGATAATACTTGCATACTTTTGCTTGCAATTTGTAC | 540  |
|     | AP-1 GATA Oct-1                                                                             |      |
| 541 | ATTATTGGCTTGAAGGTCAAATATTTCCCATATAAATCTTCTTCTTTTGTCTTTTCAACAGCTTAATATGAATGATGAAAAAAT        | 630  |
|     | C/EBP                                                                                       |      |
| 631 | ACAAGATTCATATTCATAAAAATACATTTTAGCCTAAAGTCTGAGGCAATTTCTCTGTACTTTCTTATAAATGACCAACAACCTAAGTGA  | 720  |
|     | IRE GATA                                                                                    |      |
| 721 | TAGCTGATAACTGACACTAATGATTCGGTTTAAATGAGTCCAGTGGCTGCGATGGCTCACCTCTTTCTGTGGAGAGGGTTGTAATGAT    | 810  |
|     | TRE                                                                                         |      |
| 811 | GAGCTGGTACAAAGTTTAAACTCCGCCCTAACTTCCAGCCAATCATGTTTGAATATTCAAATGAGCCACACATAAAGATGACTTGTAG    | 900  |
|     | PPRE GC CAAT TATA                                                                           |      |
| 901 | CGGCATCTGTGACAGACCATAAGAACTTTACTTGTAACCGCCACGCCACACCACTTTCTATCCGGTCTCTGTGTTTAAATACACG       | 990  |
| 991 | ATTGGATACAAAATGGTCGACCGACATCC AGAGAAGTTTTCATTAGGATATTTTAGTAAAAAATCTCAATAATATG               | 1071 |

图5 鳊LPL基因5'-侧翼区DNA序列

起始密码子ATG用粗体表示,通过软件TFBIND (<http://tfbind.ims.u-tokyo.ac.jp/>) 推测出的顺式调控元件用下划线表示。

Fig. 5 DNA sequence of the 5'-flanking region of *Siniperca chuatsi* LPL gene

The start codon is marked in bold letters. Putative regulatory elements identified in the sequence are underlined.

个内含子构成。这些与其他已知脊椎动物LPL、HL的基因结构基本保守。克隆得到的鳊肝脏LPL基因cDNA序列全长2 089 bp,编码515个氨基酸,鳊肝脏HL基因cDNA序列全长1 964 bp,编码497个氨基酸,它们分别含有一段长度为23、19个氨基酸的信号肽。成熟的LPL、HL蛋白质均由N-末端区和C-末端区构成。鳊LPL、HL基因编码的氨基酸序列与其他已知物种LPL、HL序列比较分析发现Ser-Asp-His组成的催化中心三联体在真骨鱼类和其他脊椎动物

的N-末端区高度保守,此位点负责催化水解TG<sup>[10]</sup>。Lys<sup>148</sup>(人LPL氨基酸残基位点编号)被认为与apoCII结合,在所有已知LPL序列中均保守存在,而在鳊和斑马鱼HL序列中相对应的是Ser残基,人HL是Thr残基。这与apoCII被认为是LPL的一个必需激活因子而对HL来说并不必要的假定相一致。LPL、HL都属于N-连接糖蛋白类,不同物种LPL、HL所具有的潜在N-糖基化位点(Asn-Xaa-Ser/Thr)的数目和位置是不同的。鳊LPL含有3个潜在N-糖基化位点,而

|      |                                                                                            |      |
|------|--------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 1    | ATCATTACATTCAAAATAAGTGATACTTTTACTTTTCAGTGATAATCACATGTGTGTTTGCACAATATATAATTCTCAAAGTCTTTC    | 90   |
|      | IRE                                                                                        |      |
| 91   | CAGAATGTAATACAATATGGGCAACCATAGAACAGATGTTTCATGTTTCAGTCTTGACAGATACATTGTTATCAACATCTATCATGTTT  | 180  |
| 181  | GCTCTCTAAACTGTTCCACCTGCAGATGTGACATCACACATTAGACAACTGTGACTTTGACTCTTTGCTGCTGACTGAAATAAGGCT    | 270  |
|      | CREB PPRE                                                                                  |      |
| 271  | TTAAAGAACATGTTTACAGCTTGAATGTTATTCTGTTTCATGCTTAGTGTAGCAGAACAAAAGAGGAACACTCACTGAAGCCTCAACTAT | 360  |
| 361  | GAAAACTACGTGCTGTGTGCGTTTATATGTGTGTAATACTGACCTGATTGGGTCTTGGCACACAGTTTTTAACTGACATATCCAT      | 450  |
|      | CREB                                                                                       |      |
| 451  | AAATACATCCAATAATGAAAAATATAGCAATTCATCAATGCCAGCTTAGGTATTACTGTAACCTATTTACAGCCTCTATGATGAAATGT  | 540  |
| 541  | TGTAGGTGTAATGCATTTAAAGCTGCTGGATAATTAATATTACAGTTTATATTATAAGAAAGCATAAGCATCCATTTGTACGGAA      | 630  |
| 631  | CAGCCTGAGTTGATTTAATTGCAGTTTATTATCATATAATGACGCATGCAGTCAGTGACTGATTGGAAATTTCCAAAGAGTCTCAGA    | 720  |
| 721  | AACTATTGATTGGGACATACCAACTTAAACATCATCAGTTATGAATTAATAATTTGAGATTACTGTCAGTGGGAATCTTTCTTATATTT  | 810  |
|      | HNF1 C/EBP                                                                                 |      |
| 811  | CAAAATATAGAGCAATACAGGATATTTAACTGACGATTCCTTCAGCAGCTAAAATTAGATTTCTGACATTATTAACATAGGAAAACATCA | 900  |
|      | MEF2                                                                                       |      |
| 901  | GGAAAACATCAAAACAGCAGACAGATACACAGACACAAAATATAATCAGCTTATAAAAAGTTGAAATGGCATGACGGCGCAAAAAC     | 990  |
|      | GATA IRE                                                                                   |      |
| 991  | ACCTACTTAAACATCCAGCATACACTGAGCTACATTAGCATTCATTGGAGCATTGTGTTTCTGTTACCCCTTTCCATTAATAATCATTT  | 1080 |
|      | Oct-1                                                                                      |      |
| 1081 | GATTCAGTGTTAATATCAAAAATATTGATTGAAATATTCATGCCAAAGTGTAACCTGTTTGAGCCAGCACTGAGGACACTTTGTATCAT  | 1170 |
| 1171 | TGTATTCACTTAGAAAGACAGAATAATGAAGATTCATTTTTTAAATGAGTGCAGATGAGGAGTGTAAGTACCGACTTGACTCAGTA     | 1260 |
|      | GATA                                                                                       |      |
| 1261 | TGTGAGGGTCACCATGACCATGTGTGTGAATCATTAACCTGTTTGTGTACTGTGCTTAAACACACCATTTACCTAAGACAAACTGACAC  | 1350 |
|      | HNF1                                                                                       |      |
| 1351 | TTGAAAACAGTCCAGTGAAGAAAGATGATAGAAACCTGTAACTTTAATTCCTTGGTCTAAAAACCCACAGACATTACAAACAGAAATG   | 1440 |
|      | GATA IRE IRE                                                                               |      |
| 1441 | AGGATTGGGCTTCTGATTTTATCAATTATCTCTGAAACAGCATGCTGAAATCTAATTTATCATGAAAATAATTGATTATGTCATTGAC   | 1530 |
|      | Oct-1                                                                                      |      |
| 1531 | ATTACAAAAAATCTCTGAATACAATCTGTTGTTAGACTGAGTACACTGGGTACGTGAAGTCTACTTTTCAACTGTTCAAACATGTAT    | 1620 |
|      | IRE GRE                                                                                    |      |
| 1621 | TGCAGCAATGCGGGAAGATTCCACATCTAATCTCTGCTTAATCATTCATGTTTTGTCCTGGACTAAAGTTTGGCTTGAACTGGTAGTT   | 1710 |
|      | C/EBP IRE                                                                                  |      |
| 1711 | CTGTAAAACTACATAGAGAAGGACATTTCTTGCACTTGTAGATGGAACATGGAGAGGGTCTGAATGAAGGATCTGAGGTCAATTCTACC  | 1800 |
|      | TRE PPRE                                                                                   |      |
| 1801 | TCTCAGTTACTATCAGCACATTGTACCAGATCCCCTCCCCGTTTCATACCTCTGCTCTTTCACAATGTGTTCAATCTACACAGCCCCAGC | 1890 |
|      |                                                                                            |      |
| 1891 | CAATCAGGATAGGACCAAGTCCCCTTTACCCATAAACCTACTTCCGGCGCCCCCTCTCTCCGTACAGTGTAGTACAATGTGTTTCC     | 1980 |
|      | CAAT TATA                                                                                  |      |
| 1981 | CACTGTGATTTCAAGCCTCAGGACAGAAATGAGGCTTCATTAAGAGTCTCTATAGCTGCAGACAAAAGGATCTCCCCTTCAAACCTCTA  | 2070 |
| 2071 | CATTACCTGCATTTCCCCCACTAAAGATTTAAACCTGTTCTCATCCTGTGGGAGAAGTGTGGTTCAAAGGAATTACCAAGTGTCT      | 2160 |
| 2161 | GTTCGACACCATG                                                                              | 2173 |

图6 鳊HL基因5'-侧翼区DNA序列

起始密码子ATG用粗体表示,通过软件TFBIND (<http://tfbind.ims.u-tokyo.ac.jp/>) 推测出的顺式调控元件用下划线表示

Fig. 6 DNA sequence of the 5'-flanking region of *Siniperca chuatsi* HL gene

The start codon ATG is marked in bold letters. Putative regulatory elements identified in the sequence are underlined

HL有2个。其中的一个N-糖基化位点, N<sup>359</sup>(人LPL氨基酸残基位点编号)发现在所有的LPL、HL中均保守存在(图3)。

人、鸡等内温脊椎动物LPL,包含5对高度保守的半胱氨酸残基(Cys54和Cys67、Cys243和Cys266、Cys291和Cys310、Cys302和Cys305、Cys445和Cys465)(人LPL氨基酸残基位点编号)形成5个二硫键<sup>[10]</sup>,除邻近C端的第5对外,其他4对Cys在鳊中均存在(Cys73和Cys86、Cys262和Cys288、Cys313和Cys327、Cys324和Cys332)。人、鸡等内温脊椎动物

LPL C端第5对半胱氨酸残基(Cys445和Cys465)在鳊、虹鳟、斑马鱼、真鲷和金头鲷中不存在,然而,在鳊和高等脊椎动物HL同源位置中均存在(人Cys467和Cys486,鳊Cys461和Cys482),其进化意义还有待确定(图3)。

LPL、HL与肝素或内皮细胞表面硫酸乙酰肝素蛋白聚糖的结合,对它们正常行使脂蛋白代谢功能非常必要。推测内温脊椎动物LPL中有4段富含保守碱性氨基酸区域可能通过静电作用与硫酸乙酰肝素蛋白聚糖结合,对这些区域进行定点突变分析

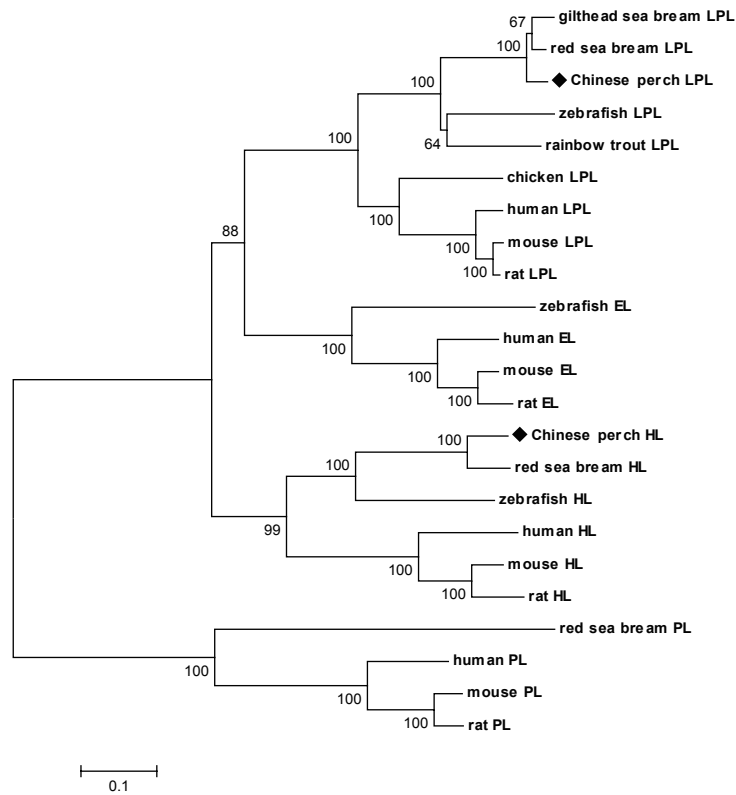


图7 LPL、HL、PL和EL的系统进化树

Fig. 7 Phylogenetic analysis of LPL, HL, PL and EL

gilthead sea bream: *Sparus aurata* red sea bream: *Pagrus major*Chinese perch: *Siniperca chuatsi* zebrafish: *Danio rerio* rainbow trout: *Oncorhynchus mykiss* chicken: *Gallus gallus*human: *Homo sapiens* mouse: *Mus musculus*rat: *Ratus norvegicus*

发现位于N端的Arg306、Lys307和Arg309(人LPL氨基酸残基位点编号)(区域1)和位于C端的Lys346、Lys430、Arg432、Arg434和Lys441(人LPL氨基酸残基位点编号)(区域4)的碱性氨基酸区域影响肝素的结合,特别是其C端富含碱性氨基酸的部分(区域4)对肝素结合起主要作用<sup>[11]</sup>。HL相应的肝素结合区碱性氨基酸保守性虽不高,但与LPL对比也显示了部分保守性,特别是区域1和4。对小鼠HL的这些区域进行突变研究发现这些区域也都涉及到对肝素结合作用。而与LPL不同的是,HL上位于N端的肝素结合区(区域1)对肝素的结合起主要作用<sup>[12]</sup>。肝素结合区1的3个碱性氨基酸残基在鳊LPL、HL中均保守存在(LPL: <sup>328</sup>RKNR<sup>331</sup>;HL: <sup>314</sup>RKNR<sup>317</sup>)。肝素结合区4的碱性氨基酸残基在鳊LPL中也基本保守(<sup>368</sup>K,

<sup>452</sup>KLRIKSGETQSK<sup>463</sup>),在鳊HL中部分保守(<sup>354</sup>R,<sup>448</sup>KISVKAGETQER<sup>459</sup>)。值得指出的是,与LPL相比,鳊、斑马鱼低等脊椎动物HL肝素结合区1和肝素结合区4的碱性氨基酸均比人、小鼠等内温动物HL的要保守(图3),鱼类等低等脊椎动物的这种高保守性和HL与肝素的结合能力及结合位置的关系还有待进一步研究。

序列比较发现鳊HL基因转录起始区域与鳊LPL没有同源性。然而,在鳊肝脏HL基因转录起始区发现许多和LPL基因一样的顺式调控元件(图6): TRE(-403 bp), CREB元件(-1 762 bp和-1 953 bp处), IRE(-496 bp,-631 bp,-737 bp,-755 bp,-1 180 bp和-2 108 bp处), C/EBP受体元件(-507 bp和-1 355 bp处), GRE(-607 bp处), Oct-1受体元件(-639 bp和-1 148

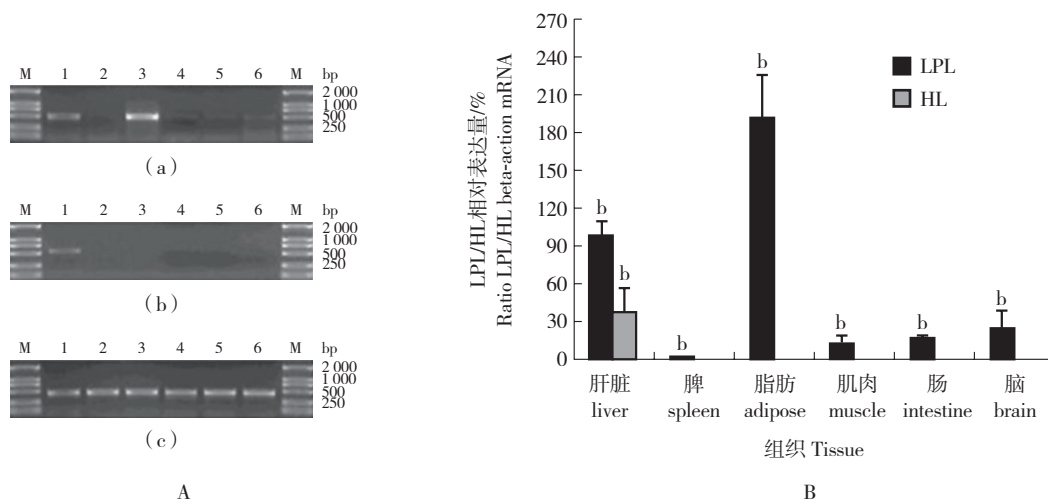


图8 鳊 LPL 和 HL 基因组织表达分析

A: LPL (a)、HL (b) and beta-actin (c) mRNA 表达的 RT-PCR 分析. M, marker; 1, 肝脏; 2, 脾; 3, 脂肪; 4, 肌肉; 5, 肠; 6, 脑.

B: 鳊不同组织 LPL 和 HL 基因组织表达半定量分析, ( $\bar{x} \pm SD$ ,  $n=5$ ). 若  $P < 0.05$ , 平均值的差异即认为是显著的.

Fig. 8 Analysis of LPL and HL gene expression among different tissues in *Siniperca chuatsi*

A: LPL (a), HL (b) and beta-actin (c) mRNA expression in different tissues of *Siniperca chuatsi* by RT-PCR. M, marker; 1, liver; 2, spleen; 3, adipose; 4, muscle; 5, intestine; 6 brain.

B: Quantitative analysis of LPL and HL gene mRNA expression levels among different tissues in *Siniperca chuatsi* ( $\bar{x} \pm SD$ ,  $n=5$ ). Columns represent the means. Bars represent the SD. A value followed by a superscript differs significantly ( $P < 0.05$ ) from all other values not followed by the same superscript.

bp 处), GATA (-790 bp、-940 bp 和 -1 242 bp 处) 和 PPRE (-379 bp 和 -1 926 bp 处)。这些元件通过与相应的转录因子结合在 LPL 基因表达调控中起到重要作用。与 LPL 基因表达的正调控不同的是,被报道的 PPAR 对 HL 基因表达行使负调控作用<sup>[13]</sup>。另外,与 LPL 不一样的是,鳊 HL 基因起始密码子上游 -872 bp 和 -1 398 bp 处有 2 个保守的 HNF1 结合位点, HNF1 是公认的对小鼠的 HL 启动子活性必需的结合蛋白。

有关淡水鱼类 LPL、HL 活性及其调控机制的研究尚未见报道,本研究以  $\beta$ -肌动蛋白为外参照研究鳊不同组织 LPL 和 HL 基因的表达水平。结果发现, LPL 和 HL 基因的表达均具有组织特异性。与易患动脉粥样硬化的人类 LPL 不同,鳊 LPL 基因在所有被检测组织中均有表达:在脂肪组织中大量表达,其次是肝脏、脑、肠道、肌肉,在脾中表达量最低;而鳊 HL 基因的表达则与人类相似,只在肝脏中表达(图8)。在小鼠中,正常情况下 LPL 的合成仅仅在胚胎和新生期的肝脏中发现,在成体的肝脏中并没有 LPL 的合成。在鳊中,甚至是成体的肝脏也有 LPL 的表达,

这个结果与 Lindberg 和 Olivecrona 对海水鱼虹鳟<sup>[14]</sup>, 梁旭方等对海水鱼真鲷<sup>[8]</sup> 及 Saera-Vila<sup>[15]</sup> 对海水鱼金头鲷 (*Sparus aurata*) 的研究结果一致。本实验通过对鳊 LPL、HL 基因结构与组织特异性表达的研究将为深入探讨机体脂质代谢调节机制以及 LPL、HL 在防治动脉粥样硬化中的作用奠定良好基础。

#### 参考文献:

- [1] Wong H, Schotz M C. The lipase gene family [J]. J Lipid Res, 2002, 43: 993-999.
- [2] Mukherjee M. Human digestive and metabolic lipases a brief review [J]. J Mol Catal, 2003, 22B: 369-376.
- [3] Kobayashi J, Hashimoto H, Fukamachi I, et al. Lipoprotein lipase mass and activity in severe hypertriglyceridemia [J]. Clin Chim Acta, 1993, 216: 113-123.
- [4] Amri e Z, Teboul L, Vannier C, et al. Fatty acids regulate the expression of lipoprotein lipase gene and activity in presdipose and adipose cells [J]. J Biodican, 1996, 314: 541-546.
- [5] Ando S, Mori Y. Characteristics of serum lipoprotein features as associated with lipid levels of muscle and liver from five species of fish [J].

- Nippon Suisan Gakkaishi, 1993, 59: 1 565–1 571.
- [6] Liang X F, Ogata H Y, Oku H. Effect of dietary fatty acids on lipoprotein lipase gene expression in the liver and visceral adipose tissue of fed and starved red sea bream *Pagrus major* [J]. Comparative Biochemistry and Physiology A, 2002, 132: 913–919.
- [7] Lindberg A, Olivecrona G. Lipase evolution: Trout, *Xenopus* and chicken have lipoprotein lipase and apolipoprotein C-II-like activity but lack hepatic lipase-like activity [J]. Biochimica et Biophysica Acta, 1995, 1255: 205–211.
- [8] 梁旭方, Oku H, Ogata H Y, 等. 海水鱼真鲷脂蛋白脂肪酶基因 cDNA 序列与组织表达 [J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2002, 18 (6): 712–719.
- [9] Tsunoda T, Takagi T. Estimating transcription factor bindability on DNA [J]. Bioinformatics, 1999, 15: 622–630.
- [10] Raisonnier A, Etienne J, Arnault F, et al. Comparison of the cDNA and amino acid sequences of lipoprotein lipase in eight species [J]. Comp Biochem Physiol, 1995, 111B: 385–398.
- [11] Sendak R A, Bensadoun A. Identification of a heparinbinding domain in the distal carboxyl-terminal region of lipoprotein lipase by site-directed mutagenesis [J]. J Lipid Res, 1998, 39: 1 310–1 315.
- [12] Sendak R A, Berryman D E, Gellman G, et al. Binding of hepatic lipase to heparin; identification of specific heparin-binding residues in two distinct positive charge clusters [J]. J Lipid Res, 2000, 41: 260–268.
- [13] Neve B P, Fruchart J C, Staels B. Role of the peroxisome proliferator-activated receptors (PPAR) in atherosclerosis [J]. Biochem Pharmacol, 2000, 60 (8): 1 245–1 250.
- [14] Lindberg A, Olivecrona G. Lipoprotein lipase from rainbow trout differs in several respects from the enzyme in mammals [J]. Gene, 2002, 292: 213–223.
- [15] Saera-vila A, Caldach-giner J A, Gomez-requeni P, et al. Molecular characterization of gilthead sea bream (*Sparus aurata*) lipoprotein lipase. Transcriptional regulation by season and nutritional condition in skeletal muscle and fat storage tissues [J]. Comp Biochem Physiol B, 2005, 142 (2): 224–232.

## Genomic structure and expression of lipoprotein lipase (LPL) and hepatic lipase (HL) genes in *Siniperca chuatsi*

YAO Yu, LIANG Xu-fang, LI Guang-zhao, WANG Lin, LIU Xiu-xia

(College of Life Science and Technology, Jinan University, Guangzhou 510632, China)

**Abstract:** In order to study the genomic structure and functional of *Siniperca chuatsi* lipoprotein lipase (LPL) and hepatic lipase (HL) genes, at first, two full-length cDNA clones of LPL and HL were isolated from the liver of *Siniperca chuatsi* by RT-PCR and RACE. The LPL cDNA was 2 089 bp in length, and contains a 1 548 bp open reading frame (ORF) encoding 515 amino acids. The HL cDNA was 1 964 bp in length, and contains a 1 494 bp ORF encoding 497 amino acids. Phylogenetic analysis showed that *Siniperca chuatsi* LPL and other vertebrate LPL are grouped in one cluster, as well as all the HL sequences grouped in the other cluster. LPL and HL genomic sequences were identified in the *Siniperca chuatsi* genome and displayed the same genomic structure as other vertebrates (LPL: 10 exons and 9 introns; HL: 9 exons and 8 introns) spanning 7.4 kb and 8.8 kb, respectively. Using genome walker method, the LPL and HL 5' -flanking regions were obtained in the *Siniperca chuatsi* which spanned 1 071 bp and 2 173 bp, respectively, and several potential regulatory elements were identified in the promoter regions. The mRNA expression of *Siniperca chuatsi* LPL gene was detected in all the examined tissues; highest in adipose tissue, followed by liver, brain, intestine, muscle, and lowest in spleen. But the *Siniperca chuatsi* HL gene was found to be exclusively expressed only in liver. These studies will lay a foundation in the regulation of gene expression in lipid metabolism and the prevention from the development of atherosclerosis. [Jorunal of Fishery Sciences of China, 2009, 16 (4): 506–517]

**Key words:** lipoprotein lipase; hepatic lipase; cDNA sequence; genomic structure; *Siniperca chuatsi*