

# *plin-1* 调控脂代谢在胚胎发育和寿命中的作用机制

袁宇航、赵欣玲、陶丹丹、车金玫、周柔辰

**摘要:** *plin-1* 编码的 PLIN1 (Perilipin1) 脂滴包被蛋白是脂滴表面含量最丰富的蛋白,它参与脂滴的形成、甘油三酯的储存和脂肪分解。PLIN1 对脂质代谢具有双向调节作用,与脂质代谢相关疾病联系紧密,相关的研究开展了许多,但目前关于 *plin-1* 在胚胎发育过程中脂质代谢及寿命与脂质代谢间关系的研究仍空缺着。本项目以秀丽隐杆线虫为模式生物,以功能缺失突变体 *plin-1(tm1704)* 为主要研究品系,研究 Perilipin 1 在线虫体内的同源蛋白 PLIN-1 的相关功能作用,对已知的脂质代谢调控通路进行验证,初探脂质代谢与胚胎发育和寿命之间的联系。通过实验我们证明了线虫 PLIN-1 蛋白的缺失将导致其早期胚胎脂滴异常,同时对线虫从胚胎到成虫的整个发育过程都有显著影响。PLIN-1 的具体作用机制目前还尚不明确,目前仅初步排除两个可能的通路 *vit-2—plin-1*、*atgl-1—plin-1*, 还需要进一步进行可能通路的探索。

**关键词:** *plin-1*、脂质代谢、胚胎、脂滴、*vit-2*、*atgl-1*

## 1 引言

近年来,随着人们生活水平的提高、膳食习惯及生活方式的改变,脂代谢异常相关类疾病的发生率亦呈逐渐增加趋势。研究脂质代谢不仅能够了解相关疾病的发病机理,而且能够为这些疾病的预防和治疗提供新的策略。而 PLIN1 ( Perilipin1) 基因正是调控脂类代谢的“分子开关”<sup>[1]</sup>。迄今为止,在人类中已经确定了 PLIN 家族中的 5 种不同的成员,其中 PLIN-1 是白色脂肪组织中主要的脂肪分解调节因子,而目前已知秀丽隐杆线虫有唯一 *plin* 基因同源物,名为 *plin-1*<sup>[1]</sup>。

先前对 *plin-1*/PLIN1 的研究集中在脂质代谢作用和相关代谢疾病研究上。PLIN-1 对脂质降解具有双向调节作用:一方面,在正常状态下,PLIN-1 通过与脂代谢相关基因 ABHD5 结合,抑制 ABHD5 与脂肪甘油三酯脂肪酶 (adipose triglyceride lipase, ATGL) 的结合,阻止细胞质中的脂肪酶接触到脂滴内的甘油三酯,发挥抑制脂解作用<sup>[2]</sup>。另一方面,空腹或锻炼的状态下,PLIN-1 的屏蔽作用减弱,同时 PLIN-1 在 G 蛋白偶联受体的介导下高度磷酸化,有利于脂肪酶亲和脂滴表面,从而促进脂解作用<sup>[3-5]</sup>。此外 PLIN-1 也会促进脂滴的合成,现有研究证明 PLIN-1 可与脂肪特异性蛋白 27 的结构域相互作用,促进大脂滴形成<sup>[6]</sup>。其他研究对于 *plin-1* 相关的代谢疾病如脂肪组织炎症<sup>[7]</sup>、高血压<sup>[8]</sup>、脂肪肉瘤<sup>[9]</sup>、肥胖<sup>[10-11]</sup>等进行了初步的机制探究,但具体的调控通路仍不清楚。

脂质作为一种重要的能量来源,其代谢活动对胚胎发育具有重大意义,如脂质  $\beta$ -氧化增强时会促进胚胎发育<sup>[12, 13]</sup>,而 *plin-1* 作为调控脂类代谢的“分子开关”,合理推测 *plin-1* 对胚胎发育可能具有某些重大意义。但目前针对 *plin-1* 在胚胎发育过程中如何调控脂质代谢还不清楚,以及胚胎脂质代谢与寿命之间的关系还有很大的研究空间。基于上述背景,本项目开展 *plin-1* 调控脂质代谢与胚胎发育及寿命的作用机制的研究工作。通过本课题的研究,将有望揭示胚胎代谢异常与寿命之间的关联,为人类某些脂质代谢异常导致发育和寿命异常的疾病治疗提供一种可能的思考方向。

## 2 方法和材料

## 2.1 实验材料

### 2.1.1 材料

秀丽隐杆线虫 N2 (野生型)、*plin-1(tm1704)*、*dhs-3(tm56)*、*plin-1::mCherry*、*vit-2::gfp*、*atgl-1::gfp*，大肠杆菌 OP50、*plin-1* 干扰菌

### 3.1.2 试剂

氯化钠(NaCl),琼脂(Agar),蛋白胨(Peptone),胆固醇(Cholesterol), PK, 氯化钙(CaCl), 硫酸镁(MgSO<sub>4</sub>), 异丙基-β-D-硫代吡喃半乳糖苷(IPTG), 氨苄, 氢氧化钠(NaOH), 次氯酸钠(NaClO), 甘油, 多聚甲醛, 琼脂糖, 1×TAE, 尼罗红(NileRed)。

### 3.1.3 仪器

移液枪, 台式低速离心机, 旋转混匀仪, 分析天平, 体式显微镜, 荧光显微镜, 荧光定量 PCR 仪, 紫外凝胶成像仪, 蠕动泵驱动器, 水浴锅, 摇床振荡箱, -20℃冰箱, -80℃冰箱, 4℃药品保存箱, 液氮罐, 生化培养箱, 高压灭菌锅, 磁力搅拌器, 超净工作台, 电泳仪。

## 2.2 实验设计及方法

### 2.2.1 线虫基础实验操作

#### 1. NGM 固体培养基的配制

配制 5L NGM 培养板, 首先需要称取 15g NaCl 固体, 100g 琼脂粉末, 12.5 g 蛋白胨, 再量取 5mL 5mg/mL 的胆固醇, 加入到 5L 规格锥形瓶中, 同时放入磁力转子。随后用双蒸水定容至 5L 体积。用锥形瓶封口膜和锡箔纸封住锥形瓶瓶口, 置于灭菌锅中, 121℃灭菌 50 min。灭菌完成后, 室温冷却至 50℃左右, 再在无菌超净工作台加入 5 mL 1M MgSO<sub>4</sub> 溶液, 5 mL 1M CaCl<sub>2</sub> 溶液, 125 mL PK 缓冲液。在磁力搅拌器上, 充分搅拌均匀。后根据实验的要求选择不同规格的 NGM 培养板(直径 6 cm 或 10 cm), 使用蠕动泵分液铺平板, 冷却凝固。

#### 2. OP50 的制备

在无菌环境下将 OP50 接种到 LB 液体培养基中, 37℃摇床培养箱中过夜培养。培养完成后, 在超净工作台使用分液器向每个 NGM 平板中加入 OP50 菌液, 不同规格的培养板加入的菌液量不同, 直径为 6cm 的培养板加入 400 微升菌液, 直径为 9cm 的培养板加入 1mL 菌液, 轻轻晃动铺开。晾干, 室温培养 2 天即可使用。

#### 3. 线虫同步化

秀丽线虫的同步化步骤:

(1) 培养线虫, 当培养板上大部分线虫处于成虫期, 同时平板上有很多未孵化的卵且生长状态良好时, 便可进行同步化处理。

- (2) 将培养板上的所有线虫用单蒸水冲洗到 15mL 离心管中，2700rpm 离心 1 分钟，去上清。
- (3) 向沉淀的虫体中加入 2mL Bleach 裂解液，震荡 2 分钟，加入单蒸水至 15mL,2700rpm 离心 1 分钟，去上清。
- (4) 继续向离心管中加入 2mL Bleach 裂解液，振荡，在体式显微镜下观察虫体裂解情况，约三分之二的虫体裂解时立刻加入单蒸水至 15mL，2700rpm 离心 1 分钟，去上清。
- (5) 向离心管中加入 15mL 单蒸水清洗残留的裂解液，2700rpm 离心 1 分钟，去上清。重复该步骤 2-3 次。
- (6) 向沉淀中加入 5-7mL M9 缓冲液，使虫卵均匀悬浮于 M9 缓冲液中。随后置于摇床，20°C 孵化培养 16-20 小时，即可得到 L1 时期的线虫。

## 2.2.2 表型观察及基因鉴定

### 1.表型观察

对 *plin-1* 突变体的脂滴表型做初步的观察。分别饲养 *plin-1(tm1704)* 和 N2 的线虫，生长至 Adult 期后进行多聚甲醛固定、Nile Red 染色，荧光显微镜观察线虫脂滴情况。

- (1) 培养 *plin-1 (tm1704)* 和 N2 的虫子，注意其生长情况，至 Adult 期时使用单蒸水将培养板上的虫子冲洗至 1.5ml 的 EP 管中，冰上静置，去上清。
- (2) 向 EP 管中加入 1mL M9 及 50  $\mu$ L 多聚甲醛，混合均匀，冰上静置。待线虫沉底后放入液氮中速冻。
- (3) 将收集的线虫样品快速地冻融三次，室温静置
- (4) 吸去上清，沿管壁缓缓加入 1ml M9 清洗一次，静置。虫体沉底后去上清。清洗完成后加入 1ml 的 M9 buffer，2 微升 Nile Red (0.5 mg/mL)，混匀。将样品插入摇板上避光染色 30min~1h。
- (5) 染色完成后，室温静置沉淀，吸去上清，并用 M9 清洗。将染色线虫滴到垫有 2% agarose pad 的载玻片上，即可用荧光显微镜观察并拍照。

### 2.基因鉴定

鉴定线虫突变株 *plin-1 (tm1704)* 的基因型。于 WormBase 上找到 *plin-1(tm1704)* 的突变序列位点，发现该基因为 deletion 突变，在突变序列片段两端设计引物。对 *plin-1(tm1704)* 和 N2 的虫子进行裂解获得模板 DNA，用设计好的引物进行 PCR，将 PCR 产物进行 DNA 凝胶电泳，观察条带。

- (1) 制备 DNA 模板：用 picker 挑取 10-20 条线虫，放入 20  $\mu$ L worm lysis buffer 中，放置在 -80°C 冰箱中冻 2h，2h 之后将其放入 PCR 仪中，启动程序 60°C 1h，95°C 20min。得到模板的粗溶液。
- (2) 配置 PCR 体系：F、R 引物各 1 $\mu$ L，R Taq Mix 10 $\mu$ L，DNA 模板 1.5 $\mu$ L，ddH<sub>2</sub>O 6.5
- (3) 设置反应时间和温度：根据引物 T<sub>m</sub> 值设置退火温度，根据 DNA 模板大小以 1kb/min 设置延伸时间。。

(4) 制胶：称取琼脂糖 2g 于三角瓶中，加入 100ml 1×TAE 液，用锡纸封口，微波炉加热至琼脂糖完全溶解，室温冷却至 60°C 时，加入染料，充分混匀后倒板（注意排除气体）。

(5) 点样：取 10 微升 PCR 产物滴入凝胶加样孔中。

(6) 跑胶：将点好样的胶放入电泳仪中，接通电源，使样品由负极向正极移动。

(7) 观察条带。

### 2.2.3 RNAi 表型鉴定、回交纯化背景

#### 2.2.3.1 RNAi 表型鉴定

通过 RNAi 再次确认是否为 PLIN-1 蛋白缺失导致的表型。

(1) 制备干扰 NGM 板：以 5L 培养基为例，在普通 NGM 培养基的基础上加入 5mL 氨苄青霉素及 5.95g 的 IPTG，其他步骤相同，即可制备得到干扰板。

(2) 准备实验用菌：制备转化有空载体的大肠杆菌 HT115 以及 *plin-1* RNAi 干扰菌：挑取单菌落将其接入加有氨苄的液体 LB 培养基中，在 37°C 培养箱中过夜培养，用分液器将 HT115 及干扰菌分别加到干扰 NGM 平板上，晃开形成圆形菌斑。晾干并诱导 1-2 天即可用于实验。

(3) 分别同步化 N2、*plin-1(tm1704)*，得到 L1 时期的两种线虫，并分别在 OP50 上饲养 N2、*plin-1(tm1704)*，以及在 *plin-1* 干扰菌上饲养 N2，收 Adult 期虫子 NileRed 染色拍照观察其卵内脂滴情况，具体实验步骤参考 2.2.2。

#### 2.2.3.2 回交

纯化 *plin-1(tm1704)* 线虫的基因背景，以排除其它可能的突变对表型的影响。

(1) *plin-1(tm1704)* 雄虫的制备：培养 *plin-1(tm1704)* 线虫至 L4 时期，用封口膜将培养板封住，将其放入 30°C 水浴锅中热激，4h 后取出。

(2) 将 *plin-1(tm1704)* (♂) 和 N2 (♀) 的 L4 期虫子置于杂交板上，将杂交产生的后代 F1 雌雄同体一条一板 (single)，继续培养产生 F2 后代，再次 single。

(3) F2 自交后代 F3 做 lysis、PCR、电泳鉴定其基因型，具体实验步骤参考 3.2.2。

(4) 选取基因型为 *plin-1(tm1704)* 纯合的板饲养，成长至 Adult 后收虫染色拍照观察其卵内脂滴情况，确认表型是否还明显。

### 2.2.4 相似功能蛋白比较

探究是否是因为定位在脂滴上的蛋白影响其表型，比较同为脂滴驻留蛋白的 DHS-3 在功能缺失后是否会出现与 PLIN-1 相似的表型。分别饲养 N2、*plin-1(tm1704)* 及 *dhs-3(tm56)*，收 Adult 期虫子 NileRed 染

色拍照观察其卵内脂滴情况。具体实验步骤同上。

### 2.2.5 *plin-1 (tm1704)* 生长发育数据的收集

**后代数目：**分别将处于 L4 时期的 N2 和 *plin-1(tm1704)* 线虫 single 于板中，48h 后转板，统计板内后代数，在待新板后代成长前再次转板，统计板内后代数，如此反复，直至线虫不再产卵。

**胚胎孵化率：**统计 N2 和 *plin-1(tm1704)* 线虫卵孵化率，统计一定量的虫卵数，待卵发育至成虫后再度统计成虫数，计算比率。

**生长速率：**统计对比 N2 及 *plin-1(tm1704)* 线虫孵化后从 48h 到 84h Adult 期成虫所占的比例，每间隔 12h 统计一次。

**胚胎发育过程：**使用 DIC 显微镜观察活体状态下胚胎从受精卵到不同发育阶段期内脂滴的数量及大小。

### 2.2.6 寿命测定

观察 PLIN-1 蛋白缺失对其寿命的影响。

(1) 寿命板的制备。依据正常 NGM 板的配置流程配置培养基，灭菌完成后待培养基冷却至 55°C 左右，向培养基中加入 PK、硫酸镁和氯化钙的同时加入 FUDR 标准液 300ul/L，混匀后将培养基分倒入 60mm 培养皿中。(FUDR 可抑制线虫卵孵化出幼虫，便于统计最初线虫数目)

(2) OP50 的培养。挑取 OP50 单菌落于 LB 培养基中，37°C 下培养 24h，将菌液滴至制作好的寿命板中，注意不要将菌液滴至培养皿边缘，防止线虫爬至培养基底部，以便于后期统计线虫数目。

(3) 线虫饲养。取 Adult 期的 N2 及 *plin-1(tm1704)* 线虫板进行同步化，次日得到 L1 期幼虫，滴至 NGM 板中培养至 L4 期，使用 picker 各挑取 40 条线虫至寿命板中，做三个平行。每隔 48h 统计线虫存活数目，待培养基中 OP50 食用将尽时将线虫转板。

### 2.2.7 挽救实验

重新将野生型 *plin-1* 基因引入突变体 *plin-1(tm1704)* 中，观察其脂滴表型是否恢复。

(1) 取 *plin-1::mCherry* 线虫热激得到雄虫，将 *plin-1::mCherry* (♂) 与 *plin-1(tm1704)* (♀) 杂交，得到后代 F1。

(2) 在体式荧光显微镜下挑取有荧光的 F1 (♀) 于新板中，待 F1 自交，single 有荧光的 F2，自交产生后代 F3。

(3) 取部分 F3 做基因型鉴定 (裂解、PCR、电泳)，留下电泳结果为两个条带 (杂合型) 的板子，舍去单条带 (野生型) 的板子。

(4) 洗下部分留下的板子中线虫，于荧光显微镜下观察，选取所有线虫都带荧光的板子留下，舍去荧光

不纯的板子。

(5) 将剩余板子中线虫再次 single，自交得到 F4，取部分 F4 做基因型鉴定（裂解、PCR、电泳），舍去电泳条带中有单条带的板子及源于同一个 F2 先祖的板子，保留源于一条 F2 后代的所有 F4 均未出现单条带的板子，再次 single 得到后代做基因型鉴定观察是否性状分离出单条带，若未出现单条带则证明已得到纯合基因型线虫 *plin-1(tm1704);plin-1::mCherry*。（图 1A）

(6) 饲养 N2、*plin-1(tm1704)* 及 *plin-1(tm1704);plin-1::mCherry*，收 Adult 期虫子染色拍照观察其卵内脂滴情况。

### 2.2.8 可能的通路验证

VIT-2 被认为能促进脂质运输，参与脂质从肠道到生殖腺的转移，在卵黄颗粒上有定位。*vit-2* 在胚胎细胞和卵母细胞中均有表达，猜测 *plin-1(tm1704)* 导致卵内脂滴增大的过程中可能会有 *vit-2* 的参与。

ATGL-1 被认为能激活甘油三酯脂肪酶活性，参与脂质稳态和甘油三酯分解代谢过程。*atgl-1* 常被用于研究中性脂质储存病。*plin-1(tm1704)* 卵内的大脂滴是否是由于未被分解代谢聚集而成的，尝试过表达 *atgl-1* 观察对性状是否有影响。

(1) 热激 *vit-2::gfp*、*atgl-1::gfp* 得到其雄虫，分别与 *plin-1(tm1704)* (♀) 线虫杂交，得到 F1。

(2) 在体式荧光显微镜下挑取有荧光的 F1 (♀) 于新板中，待 F1 自交，single 有荧光的 F2，自交产生后代 F3。

(3) 取部分 F3 做基因型鉴定（裂解、PCR、电泳），留下 *plin-1(tm1704)* 为纯合的板子，洗下部分线虫于荧光显微镜下观察，若所有线虫均带荧光的板子则证明 *gfp* 也为纯合，得到目标线虫。（图 1B）

(4) 饲养 N2、*plin-1(tm1704)*、*plin-1(tm1704);vit-2::gfp* 及 *plin-1(tm1704);atgl-1::gfp*，收 Adult 期虫子染色拍照观察其卵内脂滴情况。

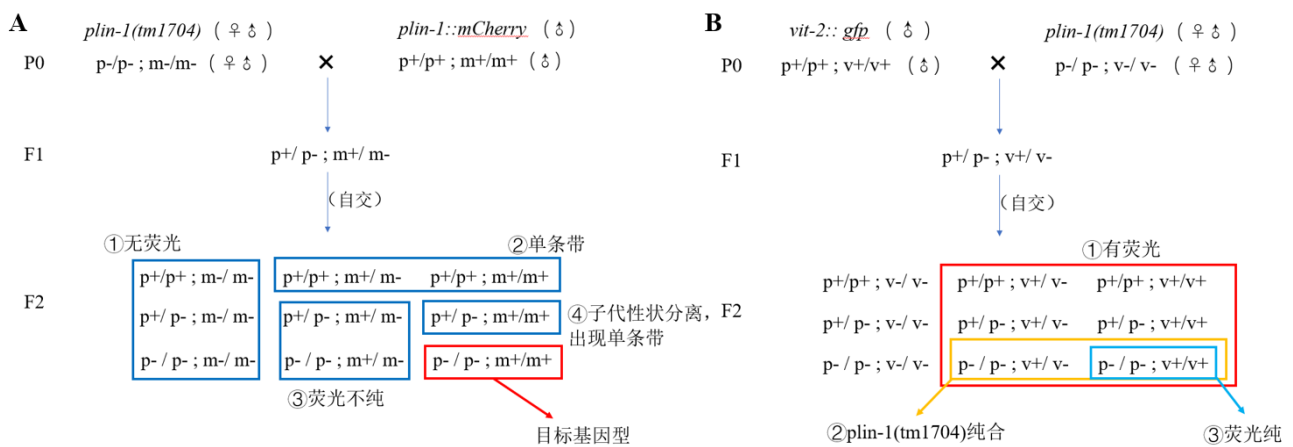


图 1: (A) 挽救杂交流程 (B) *vit-2* 及 *atgl-1* 杂交流程

### 3 结果展示与分析

#### 3.1 线虫 PLIN-1 蛋白的缺失导致其早期胚胎脂滴异常

我们对使用的 *plin-1(tm1704)* 线虫进行了基因型鉴定，确认它确实为 *tm1704* 突变体，同时通过两次与 N2 线虫回交纯化背景，初步排除了其它可能的突变基因对 *plin-1(tm1704)* 线虫表型的影响。对 *plin-1(tm1704)* 线虫的初步表型观察显示，在同一时期，对比 N2，*plin-1(tm1704)* 突变体的尾部以及卵的脂滴均存在差异，表现为突变体的尾部脂滴略微减小，卵里脂滴明显增大（图 2A）；

通过反向遗传学（RNAi）进行表型验证，与空载质粒（EV）相比，*plin-1RNAi* 同样出现了卵内脂滴增大的表型（图 2B），这证明线虫卵脂滴异常的表型确实是由 PLIN-1 蛋白的缺失引起的。

PLIN-1 是脂滴蛋白，是否其功能缺失影响脂滴的功能从而导致胚胎脂滴异常？DHS-3 与 PLIN-1 一样都是主要驻留在脂滴膜表面的蛋白质，因此我们好奇 DHS-3 的功能缺失是否也会引起相似的表型。通过对突变株 *dhs-3(tm56)* 的性状观察，结果发现其并没有相似性状（图 2C）。

为了验证 *plin-1* 在胚胎发育的哪个阶段影响脂质代谢，我们对活体状态下的线虫胚胎从受精卵到发育晚期的不同阶段做了观察，发现 *plin-1(tm1704)* 胚胎脂滴增大的表型主要出现在胚胎发育早期，在发育晚期其大脂滴并不明显（图 2D）。

综上所述，我们的研究表明线虫 PLIN-1 蛋白的缺失导致其早期胚胎脂滴异常。

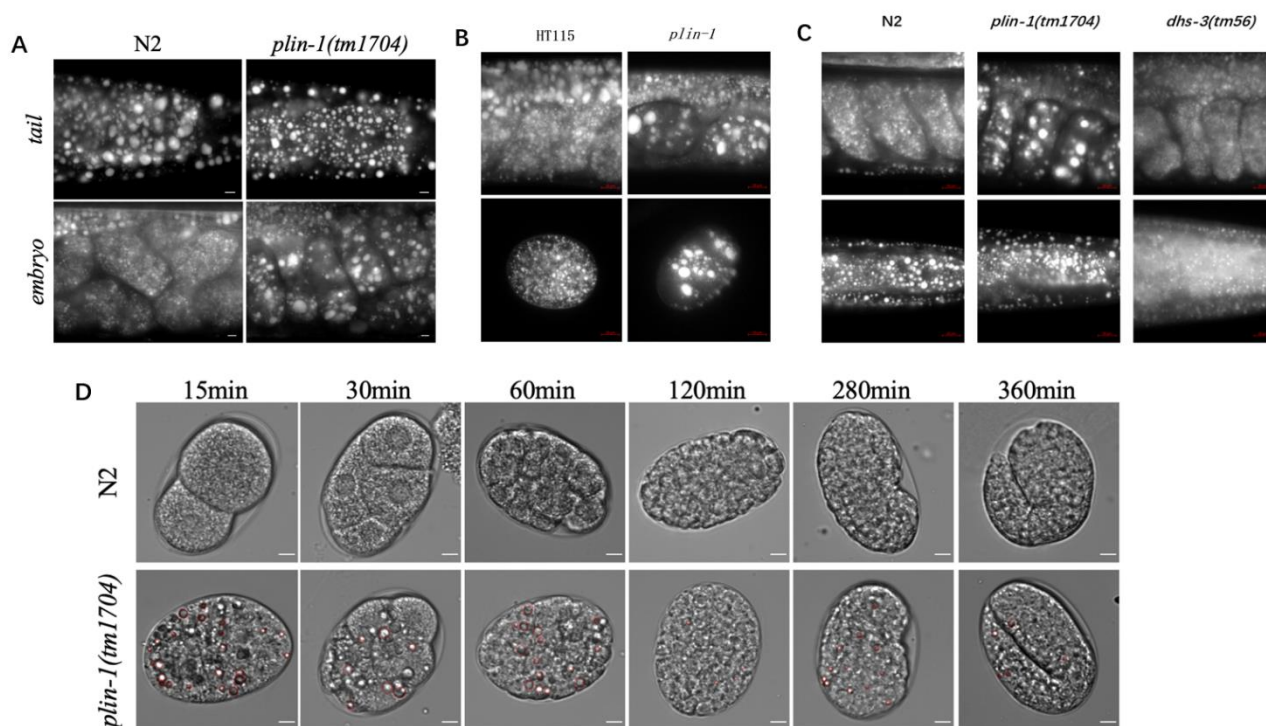


图 2: (A) *plin-1(tm1704)* 表型观察 (B) RNAi 表型鉴定 (C) *dhs-3(tm56)* 表型观察 (D) 胚胎发育过程脂滴观察

### 3.2 PLIN-1 蛋白缺失对线虫从胚胎到成虫的发育过程都有显著影响

早期胚胎发育的脂质异常会进一步影响线虫的生长发育吗？PLIN-1 的缺失对线虫是否还有着其它方面的影响？我们进一步对 *plin-1(tm1704)* 线虫的后代数、卵的孵化率、线虫的生长速率、线虫的寿命进行了统计。实验发现，*plin-1(tm1704)* 线虫的后代数对比 N2 有所减少，卵孵化率也明显降低，同时幼虫生长速率变得参差不齐，有部分个体的生长速率变得迟缓很多，并且 *plin-1(tm1704)* 线虫寿命相比 N2 有明显的缩短（图 3A,B,C,D）。以上数据证明 PLIN-1 蛋白缺失对线虫从胚胎到成虫的发育过程都有显著影响。

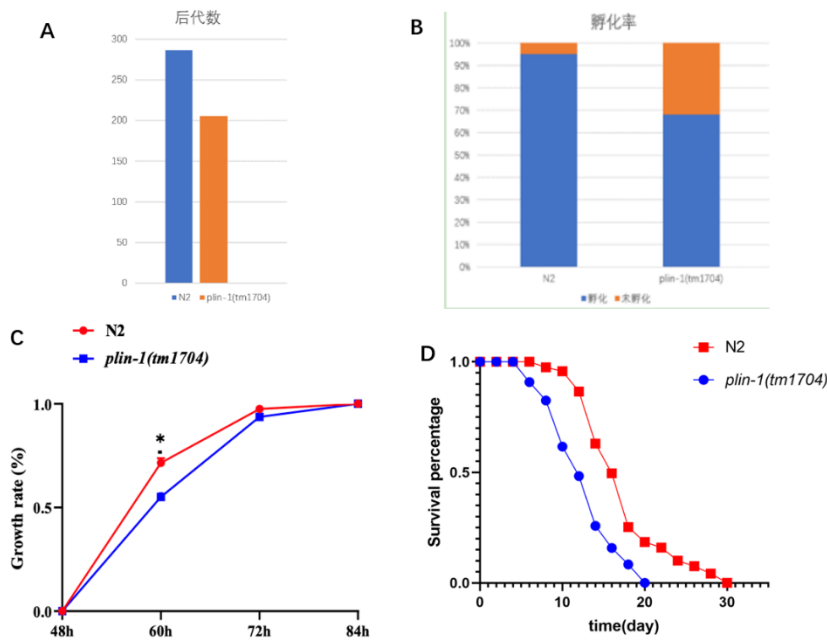


图 2: (A) 后代数统计 (B) 孵化率统计 (C) 生长速度统计 (D) 寿命统计

### 3.3 PLIN-1 作用通路探索

我们通过将 *plin-1(tm1704)* 与 *plin-1::mCherry* 杂交得到 *plin-1(tm1704); plin-1::mCherry* 线虫，重新向突变体中引入 *plin-1* 野生型基因，观察对性状的挽救情况。通过对杂交个体的染色观察发现，*plin-1(tm1704); plin-1::mCherry* 仍然表现为卵内大脂滴的性状，没有恢复野生型（图 4A）。实验结果超出预期，令人奇怪，由于线虫存在两个同样的基因，其完全纯合的个体或许鉴定，其 *plin-1(tm1704)* 基因可能还有部分个体表现为杂合，但必然向线虫体内引入了纯合的 *plin-1::mCherry* 基因，结果线虫性状却并未得到挽救，原因值得深思。

ATGL-1 能激活甘油三酯脂肪酶活性，参与线虫脂质稳态和甘油三酯分解代谢过程。我们尝试验证 *plin-1(tm1704)* 线虫卵内大脂滴的表型是否是由于 ATGL-1 介导的脂质分解代谢受到抑制所造成。通过将 *plin-1(tm1704)* 与杂交得到过表达 ATGL-1 的线虫 *atgl-1::gfp; plin-1(tm1704)*，对其染色观察后发现 *atgl-1::gfp; plin-1(tm1704)* 线虫卵内仍然具有大脂滴（图 4B），说明卵内脂滴的增大并非由于 ATGL-1 介导的脂质分解代谢受到抑制导致的。



VIT-2 参与了线虫中脂质从肠道到生殖腺的转移，我们推测 *plin-1(tm1704)* 线虫卵内大脂滴的形成是否是由于 VIT-2 对脂质的运输造成胚胎内脂质累积，从而出现大脂滴的表型，通过杂交将过表达的 *vit-2::gfp* 引入 *plin-1(tm1704)*，得到 *vit-2::gfp; plin-1(tm1704)* 线虫，荧光显微镜观察发现由于 VIT-2::GFP 蛋白在卵内表达干扰了对其脂滴的观察，但在 DIC 下观察后发现 *vit-2::gfp; plin-1(tm1704)* 线虫全身脂滴变小，而卵内仍具有大脂滴（图 4B）。

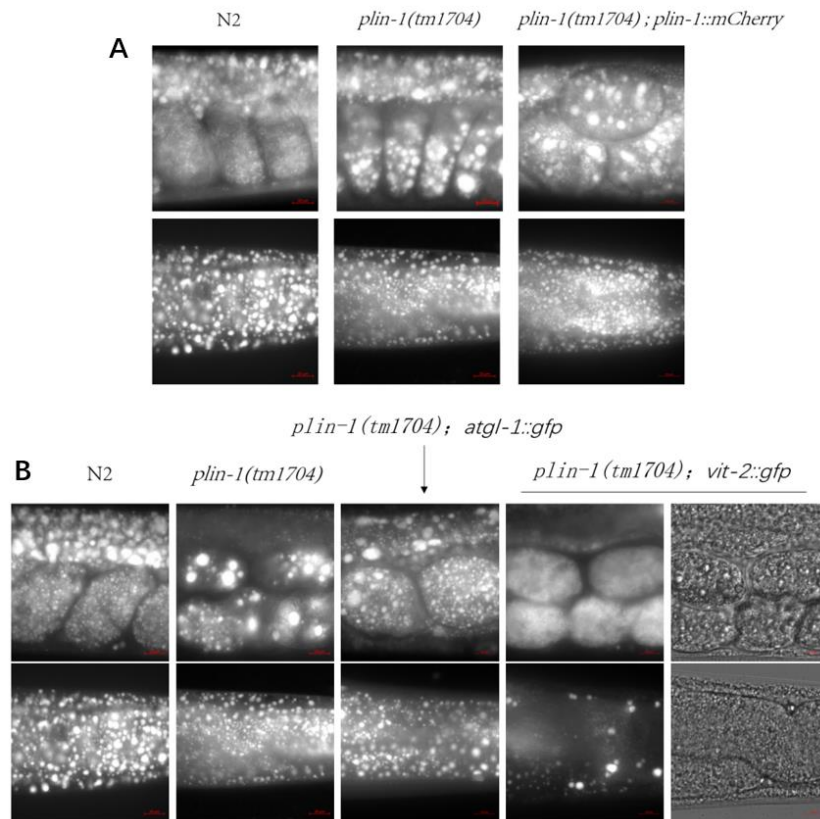


图 3：（A）对 *plin-1(tm1704)* 的挽救结果（B）*plin-1(tm1704); vit-2::gfp* 及 *plin-1(tm1704); atgl-1::gfp* 观察结果

#### 4. 讨论与展望

通过上述实验，我们证明了在秀丽隐杆线虫中 PLIN-1 缺失将导致线虫早期胚胎脂滴增大，同时 PLIN-1 缺失还对线虫胚胎、个体的发育及其寿命健康都有一系列影响。但通过外源引入 PLIN-1::mCherry 蛋白的挽救实验并未成功挽救 *plin-1(tm1704)* 的表型，其原因值得深入思考。对 *atgl-1* 的过表达实验表明其卵内脂滴并非由于 ATGL-1 介导的脂质分解代谢受到抑制所造成，但 VIT-2 介导脂质运输至卵细胞的通路还有待进一步探索，同时也还有其它可能的机制等待我们探索。

### 参考文献:

- [1] F. KAŠŠÁK, A. A. CHUGHTAI, S. KAŠŠÁK, M. KOSTROUCHOVÁ, et al. Caenorhabditis elegans Perilipin Is Implicated in Cold-Induced Lipolysis and Inhibits Autophagy in Early Embryos [J]. Folia Biol (Praha). 2020, 66(5-6):179-185.
- [2] Sanders M A, Zhang H, Mladenovic L, et al. Molecular basis of ABHD5 lipolysis activation [J]. Sci Rep, 2017, 7:42589.
- [3] Taylor S S, Ilouz R, Zhang P, et al. Assembly of allosteric macromolecular switches: Lessons from PKA [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2012, 13(10):646-658.
- [4] Miyoshi H, Perfield J W, Souza S C, et al. Control of adipose triglyceride lipase action by serine 517 of perilipin a globally regulates protein kinase A-stimulated lipolysis in adipocytes [J]. J Biol Chem, 2007, 282(2):996-1002.
- [5] Yang A, Mottillo E P. Adipocyte lipolysis: From molecular mechanisms of regulation to disease and therapeutics [J]. Biochem J, 2020, 477(5):985-1008.
- [6] Sun Z, Gong J, Wu H, et al. Perilipin 1 promotes unilocular lipid droplet formation through the activation of Fsp27 in adipocytes [J]. Nat Commun, 2013(4):1594.
- [7] 杨佳敏, 冯晨毅, 高学坤, 陈朝阳, 燕炯. Plin1 基因敲除对肥胖小鼠脂肪组织炎症反应的影响及机制研究 [J]. 营养学报, 2022, 44 (03):264-269
- [8] 崔昌婷, 王威仪. Plin1<sup>-/-</sup>小鼠高血压发生机制 [J]. 生理科学进展, 2016, 47(02):148.
- [9] Straub BK, Witzel HR, Pawella LM, Renner M, Eiteneuer E, Hashani M, Schirmacher P, Roth W, Mechttersheimer G. Perilipin 1 Expression Differentiates Liposarcoma from Other Types of Soft Tissue Sarcoma [J]. Am J Pathol, 2019 Aug; 189(8):1547-1558.
- [10] Zhang S, Liu G, Xu C, et al. Perilipin 1 Mediates Lipid Metabolism Homeostasis and Inhibits Inflammatory Cytokine Synthesis in Bovine Adipocytes [J]. Front Immunol. 2018, 9: 467.
- [11] Li S, Raza S H A, Zhao C, et al. Overexpression of PLIN1 Promotes Lipid Metabolism in Bovine Adipocytes [J]. Animals (Basel), 2020, 10(11): 1994.
- [12] Dunning KR, Cashman K, Russell DL, Thompson JG, Norman RJ, Robker RL. Beta-oxidation is essential for mouse oocyte developmental competence and early embryo development [J]. Biol Reprod, 2010 Dec; 83(6):909-18.
- [13] Dunning KR, Russell DL, Robker RL. Lipids and oocyte developmental competence: the role of fatty acids and  $\beta$ -oxidation [J]. Reproduction, 2014 Jul; 148(1):R15-27.
- [14] 邓剑辉. 秀丽隐杆线虫中 SKN-1 对 DAF-16 调控与功能影响的研究 [D]. 重庆大学, 2021.
- [15] Patel KA, Burman S, Laver TW, Hattersley AT, Frayling TM, Weedon MN. PLIN1 Haploinsufficiency Causes a Favorable Metabolic Profile. J Clin Endocrinol Metab. 2022 May 17; 107(6):e2318-e2323.

# Mechanism of *plin-1* regulation of lipid metabolism in embryonic development and lifespan

YUAN Yu-hang, ZHAO Xin-ling, TAO Dan-dan, CHE Jin-mei, ZHOU Rou-chen

**Abstract:** Lipid droplet coated protein encoded by PLIN1 (Perilipin1) gene encoded by *plin-1* is the most abundant protein on the surface of lipid droplet, which is involved in lipid droplet formation, triglyceride storage and lipolysis. PLIN1 has a bidirectional regulation effect on lipid metabolism and is closely associated with lipid metabolism-related diseases. Many related studies have been carried out, but at present, there are still no studies on the relationship between *plin-1* and lipid metabolism during embryonic development and the relationship between life span and lipid metabolism. In this study, *Caenorhabditis elegans* was used as a model organism, and *plin-1* function-deficient mutant *plin-1(tm1704)* was used as the main research strain to study the related functional effects of the homologous protein PLIN-1 of Perilipin1 in the nematode, and to verify the possible regulatory pathway of lipid metabolism in embryonic development. To explore the relationship between lipid metabolism and longevity. In the present study, the phenotype and gene identification of *plin-1 (tm1704)* were performed by using fluorescent labeling, PCR and progeny counting, and it was confirmed that the strain had the phenotype of increased lipid droplet in egg, shortened lifespan and low hatching rate. Two possible pathways, VIT-2-*plin-1* and ATGL-1-*plin-1*, were initially excluded to further explore the possible pathways.

**Key words:** *plin-1*, PLIN-1, lipid metabolic disease, embryonic development, lipid droplet in egg, *vit-2*, *atgl-1*