

DOI: 10.13376/j.cbils/2020099

文章编号: 1004-0374(2020)08-0791-07

miRNA在调控奶畜乳脂代谢中的作用研究进展

许浩天¹, 连 帅^{1,2}, 王建发^{1,2*}, 武 瑞^{1,2}

(1 黑龙江八一农垦大学动物科技学院, 大庆 163319; 2 黑龙江省牛病防制重点实验室, 大庆 163319)

摘 要: 乳汁中乳脂率是决定乳品质高低的主要因素之一。MicroRNA (miRNA) 是一类对基因表达起负调控作用的, 长度为 18~25 个核苷酸的非编码 RNA 分子。该文综述了乳腺组织中与乳脂代谢密切相关的 miRNA 的研究进展, 旨在为从表观遗传学水平上探索哺乳动物乳脂代谢新机制提供参考。

关键词: 奶畜; 乳脂代谢; miRNA; 遗传调控

中图分类号: Q752; S852.2

文献标志码: A

Research progress on the role of miRNA in regulating milk fat metabolism of dairy animals

XU Hao-Tian¹, LIAN Shuai^{1,2}, WANG Jian-Fa^{1,2*}, WU Rui^{1,2}

(1 College of Animal Science and Veterinary Medicine, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163319, China; 2 Heilongjiang Provincial Key Laboratory of Prevention and Control of Bovine Diseases, Daqing 163319, China)

Abstract: Milk fat ratio is one of the main factors that determine the quality of milk. MicroRNA (miRNA) is a group of non-coding RNA molecules with a length of 18-25 nucleotides that negatively regulates gene expression. This paper reviewed the research progress on miRNAs that are closely related to milk fat metabolism in breast tissue to provide a reference for the exploration of the new mechanism of milk fat metabolism in mammals at the epigenetic level.

Key words: dairy stock; milk fat metabolism; miRNA; genetic regulation

动物乳汁中的主要营养成分是乳脂和乳蛋白, 其所包含的营养物质对幼畜的生长发育具有重要作用。以牛乳为例, 乳蛋白含量和乳脂率均在 3%~5%^[1-2]。而乳脂因其脂肪酸组成较为丰富, 并含有大量脂溶性维生素, 成为评价乳品质高低的重要因素之一。影响乳脂率的因素包括饲养管理因素、遗传因素、生理因素和病理因素^[2], 其中遗传因素是决定奶畜乳脂合成的核心因素^[3-4]。已知的调控乳脂代谢的主要基因包括乙酰辅酶 A 羧化酶 1 (acetyl-coenzyme A carboxylase alpha 1, ACC1) 基因^[5-7]、脂肪酸合成酶 (fatty acid synthetase, FASN) 基因^[8]、长链脂酰辅酶 A 合成酶 1 (long-chain fatty acyl-CoA synthetase 1, ACSL1) 基因^[9]、脂蛋白脂肪酶 (lipoprotein lipase, LPL) 基因^[10]、分化抗原簇 36 (CD36 molecule, CD36) 基因^[11]、固醇调节元件结合蛋白 (sterol regulatory

element-binding proteins, SREBPs) 基因^[12]、过氧化物酶体增殖物激活受体 (peroxisome proliferator-activated receptors, PPARs) 基因^[13]、肝脏 X 受体 (liver X receptor, LXR) 基因^[14] 等。这些基因在乳脂从头合成、乳腺内脂肪酸摄取和转运以及脂肪酸氧化分解等乳脂代谢相关过程中被证实发挥重要调节作用。

MicroRNA (miRNA) 是一类在基因转录后通过对靶 mRNA 的翻译抑制和降解, 对基因表达起负调控作用的长度为 18~25 个核苷酸的非编码 RNA 分子^[15]。miRNA 存在于基因组的基因间隔区或者

收稿日期: 2020-03-03; 修回日期: 2020-04-03

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(31772698);

黑龙江省优秀青年基金项目(YQ2019C014)

*通信作者: E-mail: wjflw@sina.com

内含子当中, 这些小分子 RNA 可通过碱基配对与靶 mRNA 序列的 3' 非翻译区或编码区结合, 还可与靶 mRNA 的 5' 非翻译区结合, 调控基因的表达, 进一步影响细胞内部蛋白质表达水平, 从而调控生物个体的某些生理生化指标。miRNA 表达规律具有发育阶段特异性和组织特异性的特点, 其在乳腺中的表达具有以上特点^[16], 并在调节乳腺发育、泌乳过程、营养品质、脂肪代谢、天然免疫等生物学功能方面发挥了一定的作用^[17-23], miRNA 也成为研究调控乳脂代谢的新的切入点。因此, 本文综述了乳腺组织 miRNA 在调控乳脂代谢中的作用研究进展, 为进一步的研究提供参考。

1 泌乳期和非泌乳期 miRNA 表达模式的研究进展

泌乳期动物乳腺上皮细胞与非泌乳期相比, 细胞活力旺盛, 需要大量前体物质(葡萄糖、氨基酸、乙酸、 β -羟丁酸和甘油等)合成乳糖、乳蛋白和乳脂^[24]。因此, 两个时期细胞生理状态和代谢活动差异显著^[25], 细胞内部乳脂代谢活动也差异较大, 相关 miRNA 的表达模式同样存在差异性^[26-27], 这为研究与乳脂代谢有关的差异 miRNA 以及构建物种 miRNA 表达谱奠定了基础。

1.1 奶牛乳腺组织泌乳期和非泌乳期 miRNA 表达模式

早期, 研究人员在乳腺脂肪细胞和乳腺组织中建立了小 RNA 文库并进行分析, 发现 miR-23a、miR-24 和 miR-133 可能在牛乳腺发育和泌乳中发挥作用^[28-30]。刘建新教授课题组分别选取一头泌乳奶牛和一头非泌乳奶牛的乳腺组织构建了两个 miRNA 文库, 比较 miRNA 在奶牛泌乳期和非泌乳期的表达模式: 测序结果分析表明, 超过 60% 的 reads 在泌乳期和非泌乳期重叠, 其中已知 miRNA 有 248 个, 保守 miRNA 有 57 个, 新 miRNA 有 239 个; 进一步分析表明, 56 个 miRNA 在泌乳期和非泌乳期的表达差异显著 ($P < 0.05$), 其中 41 个独有的 miRNA 在两个时期均有表达, 9 个 miRNA 仅在泌乳期高表达, 6 个 miRNA 仅在非泌乳期高表达^[31]。王梦芝教授团队发现, 奶牛乳腺组织中 miR-10a、miR-15b、miR-16、miR-21、miR-33b、miR-145、miR-146b、miR-155、miR-181a、miR-205、miR-221 和 miR-223 的表达量均在干奶期和泌乳期之间增加^[32]; miRNA 功能预测结果表明, miR-221 可能调控内皮细胞增殖或血管的生成, miR-223 可能

提高乳腺组织免疫力, miR-33b 可能调控乳腺组织的脂肪生成, miRNA 的表达模式与具有不同生物学功能基因的转录调控相关。东北农业大学的研究人员对高蛋白(高脂肪)、低蛋白质(低脂肪)或干奶期奶牛乳腺组织进行转录组分析, 发现与非泌乳期相比, 哺乳期间共有 25 种核内 miRNA 存在差异表达, 这些 miRNA 参与乳腺上皮细胞增殖和乳腺发育^[33]。对高蛋白(高脂肪)组和低蛋白(低脂肪)组之间 mRNA 和 miRNA 的表达进行综合分析发现, 38 个 miRNA 和 944 个 mRNA 存在差异表达, 而且 38 个差异表达 miRNA 被预测可负调节其中 253 个差异表达 mRNA, 这 253 个差异表达 mRNA 主要与脂质生物合成和调节氨基酸跨膜转运蛋白活性有关。哥本哈根大学的 Muroya 团队使用催乳素处理奶牛乳腺上皮细胞^[34], 分析了细胞内外 miRNA 的表达水平: 催乳素处理的奶牛乳腺上皮细胞中, miR-21-5p、miR-25、miR-26a、miR-223、miR-320a 的表达水平低于未处理的细胞; 加入催乳素处理的细胞培养基中, miR-155、miR-182、miR-200c 和 miR-339a 的表达水平低于未加入催乳素的培养基, 而 miR-148a 的表达水平呈现升高趋势。生物信息学分析结果表明, 奶牛乳腺上皮细胞中下调的 miRNA 与转录调控、蛋白质磷酸化和血管发育相关基因的抑制有关, miR-148a 表达水平升高可能与奶牛泌乳期泌乳量增加有关。

1.2 奶山羊乳腺组织泌乳期和非泌乳期 miRNA 表达模式

陈宏教授团队基于干奶期和泌乳高峰期的奶山羊乳腺组织构建两个小 RNA 文库, 共鉴定出 346 个保守 miRNA 和 95 个新 miRNA^[35]。检测乳腺组织不同泌乳阶段的 miRNA 表达情况发现, miR-2887、miR-451 和 miR-2478 在泌乳高峰期表达水平上调, 在干奶期表达水平最低, 在乳腺组织 4 个不同发育阶段逐渐减少; 而 miR-145、miR-2222 和 miR-2128 的表达水平在乳腺组织 4 个发育阶段中逐渐增加。山东农业大学王建民教授实验室检测了 miRNA 在奶山羊乳腺组织中的表达情况, 发现有 697 个 miRNA 的表达水平在泌乳高峰期和泌乳后期存在显著差异, 其中 272 个 miRNA 表达水平在泌乳高峰期上调, 425 个 miRNA 表达水平在泌乳后期下调^[36]。该课题组还构建了早期泌乳崂山奶山羊小 RNA 文库, 共含有 305 711 个 sRNA, 其中 3 071 个 sRNA 与牛的已知 miRNA 匹配, 300 个已知 miRNA 和 15 个未知 miRNA 为崂山奶山羊乳腺组织特征性

miRNA^[37]。他们对泌乳早期和晚期奶山羊乳腺中 miRNA 的测序数据进一步分析, 共发现 1 487 个奶山羊乳腺组织独有的 miRNA, 包括 45 个新的 miRNA 和 1 442 个已知的 miRNA, 其中共表达 758 个 miRNA, 差异表达 378 个 miRNA ($P < 0.05$)^[38]。在泌乳早期乳腺组织中, 106 个 miRNA 丰度较高, 19 个 miRNA 特异表达; 泌乳晚期乳腺组织中, 272 个 miRNA 的丰度较高, 97 个 miRNA 特异表达; 使用 TargetScan 和 miRanda 数据库预测 miRNA 潜在的靶基因发现, miRNA 靶向数量最多的基因是 CNTNAP2, 该基因具有调控 ATP 结合、参与脂肪酸生物合成和胰岛素信号通路的生物学功能。西北农林科技大学的研究人员检测了哺乳期 4 个不同阶段的奶山羊乳腺组织中 miR-24 的表达水平, 发现与干奶期相比, miR-24 在泌乳高峰期具有最高表达水平, 奶山羊乳腺上皮细胞中 miR-24 的过表达或下调强烈影响脂肪酸谱^[39]。

在对奶畜泌乳期和非泌乳期 miRNA 表达模式的研究中, 可以很明显地观察到不同泌乳时期乳腺组织差异表达的 miRNA 其表达水平是动态变化的, 与泌乳周期变化趋于一致, 进一步证明 miRNA 具有发育阶段特异性, 也说明 miRNA 可能在泌乳调控中发挥重要作用。而在乳腺的发育和泌乳过程中, 有多少个 miRNA 在发挥作用, 其作用机制是什么, 其如何调节产奶量和牛奶质量, 这是值得进一步探究的。而利用泌乳与非泌乳时期的乳腺组织或细胞所构建的 miRNA 文库筛选具有显著差异性的 miRNA, 为后续 miRNA 功能研究奠定了坚实的基础。

2 miRNA调控乳脂代谢的研究进展

罗军教授团队评估 11 种具有调节山羊乳腺脂合成潜力的 miRNA 的表达水平, 包括 miR-9、miR-23、miR-27、miR-29、miR-33、miR-130、miR-143、miR-200、miR-223 和 miR-335, 发现 miR-200a 过表达抑制了脂滴形成相关基因的 mRNA 表达^[21]。赵志辉教授课题组从两种乳脂比例差异极大的中国荷斯坦奶牛体内收获乳腺上皮细胞作为细胞模型, 进一步验证了包括 miR-33a、miR-152 和 miR-224 在内的 3 个 miRNA 及其预测靶基因在乳脂代谢中具有潜在的调控功能^[40]。杨章平教授团队研究发现, 细胞内部三酰基甘油 (triacylglycerol, TAG) 和胆固醇表达水平在 miR-106b 过表达后趋于下降, 在 miR-106b 被抑制后呈现上升趋势^[41]。罗军教授团队成员对 miR-26 家族靶点进行分析发现,

其可能对 PI3K-Akt 信号通路、MAPK 信号通路和脂肪酸生物合成通路具有调控作用。miR-26 家族及其宿主基因可能调控羊奶的品质, 他们的表达与总脂肪产量以及短链、中链和长链脂肪酸含量有关, 与乳糖或乳蛋白含量无关, 进一步证明 miRNA 在乳脂代谢调控中的重要作用^[42]。

2.1 miRNA调控乳脂合成的研究进展

在乳腺上皮细胞中过表达 miR-103 被证明能增强与乳脂合成相关基因的转录, 促进了脂滴形成、TAG 积累和不饱和脂肪酸比例的上调^[19]。FASN 基因被发现受 miR-15b 的调控, 抑制或过表达 miR-15b, FASN 表达水平分别上调和下调, 乳腺上皮细胞中脂质含量分别增加和减少^[43]。ACSL1 基因的表达水平与 miR-181a 的表达量密切相关, 在奶牛乳腺上皮细胞中抑制或过表达 miR-181a, ACSL1 的表达水平分别上调和下调, TAG 浓度分别升高和下降, 因此 miR-181a 可能通过靶向 ACSL1 促进乳腺细胞中脂质合成的负调节^[44]。

miR-26a/b 可调控脂肪酸合成相关的基因表达 (PPAR- γ 、LXRA、SREBF1 和 FASN 等)、TAG 积累以及不饱和脂肪酸合成, 荧光素酶报告基因检测证实胰岛素诱导基因 1 (insulin induced gene 1, INSIG1) 是 miR-26a/b 的直接靶标^[45]。miR-27a 过表达后, 通过抑制 PPAR- γ 蛋白表达水平, 降低了与甘油三酯合成相关基因的 mRNA 表达, 抑制甘油三酯的积累并降低乳腺上皮细胞中不饱和 / 饱和脂肪酸的比例^[20]。

miR-454 可通过靶向 PPAR- γ 调节牛乳腺上皮细胞的甘油三酯合成, 并且 miR-454 和 PPAR- γ 能直接相互作用^[46]。而 miR-130a 过表达或被抑制, 细胞内 TAG 表达水平和脂滴数量变化显著, 与乳脂代谢相关的 mRNA 表达受到影响, 其中 PPAR- γ 的蛋白表达水平与 mRNA 表达水平变化一致, 荧光素酶报告基因检测证实 PPAR- γ 是 miR-130a 的直接靶标, miR-130a 通过靶向 PPAR- γ 直接影响奶牛乳腺上皮细胞中 TAG 合成^[47]。荧光素酶报告基因检测同样证实了 PPAR- γ 是 miR-27a 的直接靶标, miR-27a 也具有通过靶向 PPAR- γ 来控制奶牛乳腺上皮细胞中 TAG 合成的能力^[48]。

2.2 miRNA调控乳脂转运和分解的研究进展

研究发现, miR-224 可负调控 LPL, miR-224 过表达或沉默, 脂质合成相关生物标志物转录因子增强子结合蛋白 - α (enhancer-binding protein α , C/EBP- α)、C/EBP- β 、PPAR- γ 、FASN 和围脂滴蛋白

(perilipin 1, PLIN1) 的 mRNA 表达水平分别降低和升高；油红 O 染色、免疫染色、甘油三酯测定结果显示，脂滴积累量分别减少和增加；双荧光素酶报告基因检测证实 miR-224 与 LPL 之间存在负靶向调控关系^[49]。与脂肪代谢相关的胆固醇表达水平在 miR-106b 过表达后呈下降趋势，在 miR-106b 被抑制后而呈现上升趋势，表明 miR-106b 可以抑制乳脂代谢；mRNA 和蛋白质水平的实验结果进一步证明，miR-106b 可能靶向三磷酸腺苷结合盒转运体 A1 (ATP-binding cassette A1, ABCA1)；双荧光素酶报告基因证实，miR-106b 可以通过 ABCA1 调控奶牛乳腺上皮细胞的乳脂代谢^[41]。

miR-124a 可抑制脂肪甘油三酯脂肪酶 (adipose triacylglyceride lipase, ATGL) 和 CGI-58 蛋白 (comparative gene identification 58, CGI-58) 的基因表达，从而抑制脂解作用^[50]。在另一项研究中，奶牛乳腺上皮细胞中 miR-33a 可下调超长链脂肪酸延伸酶 6 (elongase of very long chain fatty acids, ELOVL6) 和羟烷基辅酶 A 脱氢酶 B (hydroxyalkyl coenzyme A dehydrogenase B, HADHB) 基因的表达；双荧光素酶测定结果进一步证明，ELOVL6 和 HADHB 是 miR-33a 的靶基因，过表达或抑制 miR-33a，乳脂代谢相关基因花生四烯酸酯 15-脂氧合酶 (arachidonate 15-lipoxygenase, ALOX15) 蛋白水平变化最为显著，并促进或抑制甘油三酯的合成^[51]。过表达 miR-25 可显著抑制 TAG 的合成和脂滴的积累并降低脂质代谢相关基因的表达，生物信息学分析表明，过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 共激活因子 1 β (PPAR- γ coactivator-1 β , PGC-1 β) 是 miR-25 的直接靶点，在其 3'-UTR 中有三个特定位点^[52]。miR-130b 被发现在山羊乳腺中表达量较高且在泌乳不同阶段存在差异，过表达 miR-130b 会抑制山羊乳腺上皮细胞中脂肪的生成，抑制 miR-130b 则促进细胞中脂肪的生成，而 PGC-1 α 是 miR-130b 的一个潜在靶点^[53]。另一项研究表明，miR-148a 和 miR-17-5p 过表达促进了 TAG 合成，而抑制 miR-148a 和 miR-17-5p 的表达使 TAG 合成减少，Western Blot 和荧光素酶报告基因检测结果表明，脂肪酸氧化的重要调节因子 PPAR- α 和脂肪代谢的主要调节因子 PGC-1 α 是山羊乳腺中 miR-148a 和 miR-17-5p 的靶标；miR-148a 与 miR-17-5p 相互配合抑制山羊乳腺上皮细胞中 PGC-1 α 和 PPAR- α 的基因表达，从而调节脂肪酸代谢^[54]。

对乳脂率差异较大的奶畜个体、乳腺组织以及合成乳脂能力差异显著的上皮细胞进行 miRNA 的

测序，构建文库并筛选差异显著的 miRNA，利用生物信息学技术对 miRNA 靶基因进行预测，进而利用分子生物学技术在基因或细胞水平上对 miRNA 靶基因进行验证。可以说，对于可能具有调节乳脂代谢功能的 miRNA 的验证技术日趋完善。乳腺上皮细胞是奶畜乳腺的基本功能单位，其基本保留了乳腺组织合成乳脂的能力，克隆培养的乳腺上皮细胞受外界环境因素影响小，因此，研究人员多以其作为实验材料。综合以上研究，可以发现 miRNA 和其靶向的基因并不是简单的一对一单向调节关系，一个 miRNA 可以有多个靶基因，多个 miRNA 也可协同调节同一基因，体现了 miRNA 在生物体内存在调节物质和能量代谢的复杂信号传递通路。表 1 总结了文中已明确靶基因的与调控乳脂代谢相关的 miRNA。

3 小结

综上所述，乳腺是奶畜泌乳的器官，乳腺上皮细胞是乳腺合成乳汁的基本功能单位。在泌乳期和非泌乳期，奶畜个体、乳腺组织、乳腺细胞处于完全不同的生理状态，物质和能量代谢差异较大。研究人员以不同泌乳时期的奶牛和奶山羊建立实验动物模型，建立乳腺组织或其上皮细胞的 miRNA 文库，其大量测序数据的分析结果表明，miRNA 在不同泌乳阶段的表达水平存在差异性，同一个 miRNA 在不同泌乳阶段的表达水平也是动态变化的。对不同泌乳时期 miRNA 表达模式的研究，进一步说明 miRNA 可能在奶畜泌乳过程中发挥重要调节作用。乳脂是牛奶中主要营养成分之一，是影响乳品质的重要因素。研究人员利用 qRT-PCR、双荧光素基因报告、Western Blot 等技术手段在基因和蛋白质水平证明了 miRNA 可调控乳腺上皮细胞内部的脂质代谢。被证实与乳脂代谢有关的 miRNA 可通过对靶基因的直接或间接调控来影响乳腺上皮细胞内部脂质代谢过程。从 miRNA 的水平解读乳脂代谢机制，为人们进一步了解细胞内部，甚至整个乳腺组织的脂质代谢调控网络提供了新的理论基础。

目前，对于奶畜乳腺组织中越来越多新发现的 miRNA，尚未明确其靶基因和相关调节功能，需要进一步的筛选和验证。限于目前的技术手段，许多 miRNA 虽然被预测与乳脂代谢调控有关，但在基因、蛋白质、细胞水平上的功能验证与生物信息学预测的功能并不一致，更增加了 miRNA 功能验证

表1 调控乳脂代谢相关miRNA及其靶基因

在乳脂代谢方面的作用	调控靶基因miRNA	靶基因	参考文献
参与调控脂肪酸从头合成或脂类生物合成	miR-15b	FASN	[43]
	miR-181a	ACSL1	[44]
	miR-26a/b	INSIG1	[45]
	miR-27a、miR-454、miR-130a	PPAR- γ	[20、46-48]
参与脂肪酸转运或胆固醇输出	miR-224	LPL	[49]
	miR-106b	ABCA1	[41]
	miR-124a	ATGL	[50]
	miR-33a	HADHB	[51]
参与调控细胞内脂肪酸分解	miR-130b	PGC-1 α	[53]
	miR-25	PGC-1 β	[52]
	miR-148a、miR-17-5p	PPAR- α 、PGC-1 α	[54]

FASN (脂肪酸合成酶): fatty acid synthase; ACSL1 (长链脂酰辅酶A合成酶1): long-chain fatty acyl-CoA synthetase 1; INSIG1 (胰岛素诱导基因1): insulin induced gene 1; LPL (脂蛋白脂肪酶): lipoprotein lipase; ABCA1 (三磷酸腺苷结合盒转运A1): ATP-binding cassette A1; ATGL (脂肪甘油三酯脂肪酶): adipose triacylglyceride lipase; HADHB (羟烷基辅酶A脱氢酶B): hydroxyalkyl coenzyme A dehydrogenase B; PPAR- $\alpha/\beta/\gamma$ (过氧化物酶体增生物激活受体- $\alpha/\beta/\gamma$): peroxisome proliferator-activated receptor $\alpha/\beta/\gamma$; PGC-1 α (过氧化物酶体增生物激活受体 γ 共激活因子1 α): peroxisome proliferator activated receptor gamma coactivator 1 α ; PGC-1 β (过氧化物酶体增生物激活受体 γ 共激活因子1 β): peroxisome proliferator activated receptor gamma coactivator 1 β 。

的难度。

miRNA 在动物体内有着极为复杂的基因调控网络和信号传递通路。未来, 随着 miRNA 靶基因功能预测和验证技术的不断进步, 当能够对 miRNA 与其靶基因匹配度进行评分以及出现针对 miRNA 调节功能更加敏感、特异的指标时, 与乳脂代谢有关的 miRNA 高效率功能验证即成为可能, 从而真正明确细胞内部从 DNA \rightarrow miRNA \rightarrow RNA \rightarrow 代谢酶 \rightarrow 底物 \rightarrow 脂肪酸 \rightarrow 乳脂的代谢调控网络, 为调节奶牛的乳腺发育及提高乳制品质量打下坚实基础。

[参 考 文 献]

- [1] 梁霄. 不同品种原料乳营养品质的研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2012
- [2] 姜雪元, 张树坤, 张源淑. 乳脂肪及其影响因素. 中国畜牧兽医, 2011, 38: 23-6
- [3] Yang J, Jiang J, Liu X, et al. Differential expression of genes in milk of dairy cattle during lactation. Anim Genet, 2016, 47: 174-80
- [4] Yang J, Liu X, Wang D, et al. Functional validation of GPIHBP1 and identification of a functional mutation in GPIHBP1 for milk fat traits in dairy cattle. Sci Rep, 2017, 7: 8546
- [5] Mao J, Demayo FJ, Li H, et al. Liver-specific deletion of acetyl-CoA carboxylase 1 reduces hepatic triglyceride accumulation without affecting glucose homeostasis. Proc Natl Acad Sci USA, 2006, 103: 8552-7
- [6] 王金凤, 王建民, 王桂芝, 等. 崂山奶山羊乙酰辅酶A羧化酶 α 基因(ACACA)多态性及其与泌乳性状的相关分析. 农业生物技术学报, 2011, 19: 1042-50
- [7] Endo Y, Asou HK, Matsugae N, et al. Obesity drives Th17 cell differentiation by inducing the lipid metabolic kinase, ACC1. Cell Rep, 2015, 12: 1042-55
- [8] 罗建学, 李春风, 初晓辉, 等. 脂肪酸合成酶基因的研究进展. 中国畜牧兽医, 2011, 38: 118-23
- [9] 赵志东, 田宏山, 蒋艳艳, 等. 牦牛ACSL1基因启动子多态性及其与乳品质性状的关联分析. 农业生物技术学报, 2019, 27: 1596-603
- [10] 张雨, 施力光, 荀文娟, 等. 能量水平和激素对脂肪代谢酶基因的调控研究进展. 动物营养学报, 2019, 31: 3505-10
- [11] 齐利枝, 闫素梅, 生冉, 等. 乙酸对奶牛乳腺上皮细胞活力及CD36和FABP3基因表达的影响. 饲料工业, 2013, 34: 49-52
- [12] 王红芳, 杨维仁, 刘建新, 等. 固醇调控元件结合蛋白及其对乳脂合成的调节作用. 动物营养学报, 2010, 22: 1165-70
- [13] Shi H, Zhao W, Zhang C, et al. Transcriptome-wide analysis reveals the role of PPAR γ controlling the lipid metabolism in goat mammary epithelial cells. PPAR Res, 2016, 2016: 9195680
- [14] 王维. 西农萨能奶山羊LXR α 基因的克隆、序列分析及表达研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2010
- [15] 邵芳, 朱斌, 顾志良. microRNA在脂类代谢中的功能研究进展. 生命科学, 2013, 25: 675-84
- [16] 金晓露, 杨建香, 李真, 等. 乳腺发育及泌乳相关miRNA研究进展. 遗传, 2013, 35: 695-702
- [17] Munch EM, Harris RA, Mohammad M, et al. Transcriptome profiling of microRNA by next-gen deep sequencing reveals known and novel miRNA species in the lipid fraction of human breast milk. PLoS One, 2013, 8: e50564
- [18] Wang T, Li M, Guan J, et al. MicroRNAs miR-27a and

- miR-143 regulate porcine adipocyte lipid metabolism. *Int J Mol Sci*, 2011, 12: 7950-9
- [19] Lin XZ, Luo J, Zhang LP, et al. MiR-103 controls milk fat accumulation in goat (*Capra hircus*) mammary gland during lactation. *PLoS One*, 2013, 8: e79258
- [20] Lin XZ, Luo J, Zhang LP, et al. MiR-27a suppresses triglyceride accumulation and affects gene mRNA expression associated with fat metabolism in dairy goat mammary gland epithelial cells. *Gene*, 2013, 521: 15-23
- [21] Lin XZ, Luo J, Zhang LP, et al. MicroRNAs synergistically regulate milk fat synthesis in mammary gland epithelial cells of dairy goats. *Gene Exp*, 2013, 16: 1-13
- [22] Li H, Wang C, Li Q, et al. MiR-15a decreases bovine mammary epithelial cell viability and lactation and regulates growth hormone receptor expression. *Molecule*, 2012, 17: 12037-48
- [23] Gigli I, Maizon DO. MicroRNAs and the mammary gland: a new understanding of gene expression. *Genet Mol Biol*, 2013, 36: 465-74
- [24] 张辉. 不同泌乳阶段的奶牛营养状况检测指标与抗氧化参数的变化及其相关性研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2016
- [25] 赵萌. 中国荷斯坦牛不同泌乳阶段乳腺基因差异表达研究[D]. 济南: 山东农业大学, 2017
- [26] 李真. 奶牛乳腺组织中miRNA表达谱研究以及与泌乳相关miRNA的鉴定[D]. 杭州: 浙江大学, 2012
- [27] 沈冰蕾. 奶牛乳腺上皮细胞microRNA表达谱构建及脂质代谢相关microRNA的筛选和验证[D]. 长春: 吉林大学, 2016
- [28] Gu ZL, Eleswarapu S, Jiang HL. Identification and characterization of microRNAs from the bovine adipose tissue and mammary gland. *FEBS Lett*, 2007, 581: 981-8
- [29] Avril SLD, Goldstein J, Stingl C, et al. Characterisation of microRNA expression in post-natal mouse mammary gland development. *BMC Genomics*, 2009, 10: 548
- [30] Silveri LG, Tilly JL, Vilotte JC, et al. MicroRNA involvement in mammary gland development and breast cancer. *Reprod Nutr Dev*, 2006, 46: 549-56
- [31] Li Z, Liu H, Jin X, et al. Expression profiles of microRNAs from lactating and non-lactating bovine mammary glands and identification of miRNA related to lactation. *BMC Genomics*, 2012, 13: 731
- [32] Wang M, Moisés S, Khan MJ, et al. MicroRNA expression patterns in the bovine mammary gland are affected by stage of lactation. *J Dairy Sci*, 2012, 95: 6529-35
- [33] Wang X, Zhang L, Jin J, et al. Comparative transcriptome analysis to investigate the potential role of miRNAs in milk protein/fat quality. *Sci Rep*, 2018, 8: 6250
- [34] Muroya S, Hagi T, Kimura A, et al. Lactogenic hormones alter cellular and extracellular microRNA expression in bovine mammary epithelial cell culture. *J Anim Sci Biotechnol*, 2016, 7: 504-13
- [35] Li Z, Lan X, Guo W, et al. Comparative transcriptome profiling of dairy goat microRNAs from dry period and peak lactation mammary gland tissues. *PLoS One*, 2012, 7: e52388
- [36] Ji ZB, Wang GZ, Xie ZJ, et al. Identification of novel and differentially expressed microRNAs of dairy goat mammary gland tissues using Solexa sequencing and bioinformatics. *PLoS One*, 2012, 7: e49463
- [37] Ji ZB, Wang GZ, Xie ZJ, et al. Identification and characterization of microRNA in the dairy goat (*Capra hircus*) mammary gland by Solexa deep-sequencing technology. *Mol Biol Rep*, 2012, 39: 9361-71
- [38] Ji ZB, Liu Z, Chao T, et al. Screening of miRNA profiles and construction of regulation networks in early and late lactation of dairy goat mammary glands. *Sci Rep*, 2017, 7: 11933
- [39] Wang H, Luo J, Chen Z, et al. MicroRNA-24 can control triacylglycerol synthesis in goat mammary epithelial cells by targeting the fatty acid synthase gene. *J Dairy Sci*, 2015, 98: 9001-14
- [40] Shen BL, Zhang L, Lian C, et al. Deep sequencing and screening of differentially expressed microRNAs related to milk fat metabolism in bovine primary mammary epithelial cells. *Int J Mol Sci*, 2016, 17: 200
- [41] Chen Z, Chu S, Wang X, et al. MicroRNA-106b regulates milk fat metabolism via ATP binding cassette subfamily A member 1 (ABCA1) in bovine mammary epithelial cells. *J Agric Food Chem*, 2019, 67: 3981-90
- [42] Wang H, Zhu J, He Q, et al. Association between the expression of miR-26 and goat milk fatty acids. *Reprod Domest Anim*, 2018, 53: 1478-82
- [43] Chu M, Zhao Y, Yu S, et al. miR-15b negatively correlates with lipid metabolism in mammary epithelial cells. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2018, 314: C43-52
- [44] Lian S, Guo JR, Nan XM, et al. MicroRNA Bta-miR-181a regulates the biosynthesis of bovine milk fat by targeting ACSL1. *J Dairy Sci*, 2016, 99: 3916-24
- [45] Wang H, Luo J, Zhang T, et al. MicroRNA-26a/b and their host genes synergistically regulate triacylglycerol synthesis by targeting the INSIG1 gene. *RNA Biol*, 2016, 13: 500-10
- [46] Zhang MQ, Gao JL, Liao XD, et al. miR-454 regulates triglyceride synthesis in bovine mammary epithelial cells by targeting PPAR- γ . *Gene*, 2019, 691: 1-7
- [47] Yang WC, Guo WL, Zan LS, et al. Bta-miR-130a regulates the biosynthesis of bovine milk fat by targeting peroxisome proliferator-activated receptor γ . *J Anim Sci*, 2017, 95: 2898-906
- [48] Tang KQ, Wang YN, Zan LS, et al. miR-27a controls triacylglycerol synthesis in bovine mammary epithelial cells by targeting peroxisome proliferator-activated receptor γ . *J Dairy Sci*, 2017, 100: 4102-12
- [49] Zhang YY, Wang YN, Wang HB, et al. MicroRNA-224 impairs adipogenic differentiation of bovine preadipocytes by targeting LPL. *Mol Cell Probe*, 2019, 44: 29-36
- [50] Das SK, Stadelmeier, E, Schauer S. MicroRNA-124a regulates lipolysis via adipose triglyceride lipase and comparative gene identification 58. *Int J Mol Sci*, 2015, 16: 8555-68
- [51] 崔志倩. bta-miR-33a靶基因的验证及对奶牛乳脂代谢调控的研究[D]. 长春: 吉林大学, 2017
- [52] Ma LA, Qiu HL, Chen Z. miR-25 modulates triacylglycerol

- and lipid accumulation in goat mammary epithelial cells by repressing PGC-1 β . *J Anim Sci Biotechnol*, 2018, 9: 48
- [53] Chen Z, Luo J, Ma LA. MiR130b-regulation of *PPAR γ* coactivator-1 α suppresses fat metabolism in goat mammary epithelial cells. *PLoS One*, 2015, 10: e014280
- [54] Chen Z, Luo J, Sun S, et al. miR-148a and miR-17-5p synergistically regulate milk TAG synthesis via *PPARGC1A* and *PPARA* in goat mammary epithelial cells. *RNA Biol*, 2017, 14: 326-38