# 读书报告

汇报人：邓大鹏

时　间：2018.5.26

Fish Physiol Biochem
https://doi.org/10.1007/s10695-018-0477-1

# Molecular characterization and identification of facilitative glucose transporter 2 (GLUT2) and its expression and of the related glycometabolism enzymes in response to different starch levels in blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*)

**Hualiang Liang · Ahmed Mokrani · Hopeson Chisomo-Kasiya · Ogwok-Manas Wilson-Arop · Haifeng Mi · Ke Ji · Xianping Ge · Mingchun Ren**

Received: 21 June 2017 / Accepted: 25 January 2018

# 目录

contents

# 01

# 研究背景

团头鲂，又名武昌鱼，其肉质鲜美，生长快，幼鱼存活率高，是我国重要的养殖淡水鱼类。在鱼类饲料中，添加一定量的碳水化合物，可减少蛋白质供能，以获得碳水化合物的蛋白质节约效应，但与哺乳动物相比，鱼类对碳水化合物的利用是有限的。

研究发现，碳水化合物摄入量过多会使团头鲂生长缓慢，并导致高血糖症的发生。 葡萄糖转运蛋白2（glucose transporters type2,Glut2）是细胞膜上的一种跨膜糖蛋白，在糖代谢过程中起着重要的作用。然而，在团头鲂中，有关Glut2分子特征的信息还未有报道，并且葡萄糖转运蛋白对血浆葡萄糖水平的调节机制还尚未确定。

本文研究目的是克隆团头鲂Glut2基因并对其分子特征进行鉴定，探究不同淀粉水平下，Glut2和糖代谢相关基因的表达量的变化。

# 02

# 实验方法与思路

团头鲂（161 ± 2.7 g），实验室暂养2周

用淀粉含量不同的饲料投喂，每日8:00、12:00、16:00饱食投喂3次，饲养9周后，取样

收集血液样品，取肝脏、肠、肌肉、鳃、体肾、心脏

克隆Glut2

血浆葡萄糖

糖酵解

糖异生

# 饲料组成成分表

**Table 1** Formulation and proximate composition of experimental diets for starch feeding trial

| Ingredients | Diet 1 | Diet 2 | Diet 3 | Diet 4 | Diet 5 | Diet 6 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Casein[a] | 22.0 | 22.0 | 22.0 | 22.0 | 22.0 | 22.0 |
| Gelatin[a] | 5.0 | 5.0 | 5.0 | 5.0 | 5.0 | 5.0 |
| White fish meal[a] | 11.0 | 11.0 | 11.0 | 11.0 | 11.0 | 11.0 |
| Soybean oil | 6.0 | 6.0 | 6.0 | 6.0 | 6.0 | 6.0 |
| Soybean lecithin | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 1.0 |
| Wheat starch[b] | 18.0 | 23.0 | 28.0 | 33.0 | 38.0 | 43.0 |
| Microcrystalline cellulose[c] | 29.0 | 24.0 | 19.0 | 14.0 | 9.0 | 4.0 |
| Carboxyl-methyl cellulose | 2.0 | 2.0 | 2.0 | 2.0 | 2.0 | 2.0 |
| Vitamin premix[d] | 2.0 | 2.0 | 2.0 | 2.0 | 2.0 | 2.0 |
| Mineral premix[5] | 4.0 | 4.0 | 4.0 | 4.0 | 4.0 | 4.0 |
| Proximate analysis (% dry weight basis) | | | | | | |
| Moisture | 8.0 | 7.7 | 7.6 | 7.9 | 7.4 | 7.8 |
| Crude protein | 30.3 | 30.1 | 29.7 | 29.7 | 29.6 | 29.2 |
| Crude lipid | 8.5 | 8.7 | 8.4 | 8.5 | 8.5 | 8.6 |
| Starch | 17.1 | 21.8 | 26.4 | 32.0 | 36.3 | 41.9 |
| Ash | 5.5 | 5.5 | 5.4 | 5.6 | 5.4 | 5.2 |

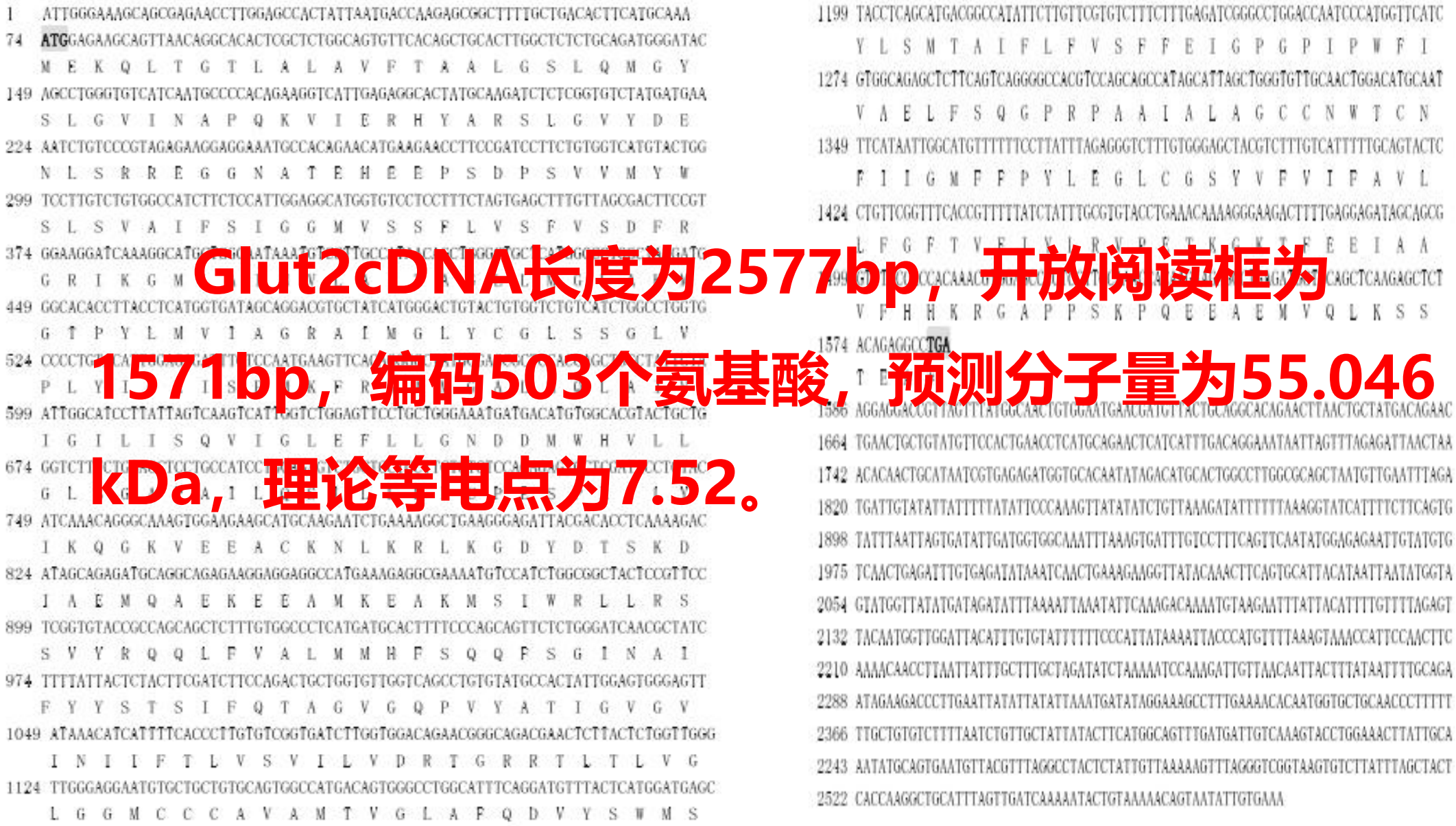
**Table 2** Sequences of the PCR primers used in this work

| Primer | Primer sequence (5′–3′) |
|---|---|
| GLUT2-F CDS amplification | ATGGAGAAGCAGTTAACAGGC |
| GLUT2-R CDS amplification | TCAGGCCTCTGTAGAGCTC |
| GLUT2-F1 (3′ RACE out primer) | GCAAGAATCTGAAAAGGCTGAAGGG |
| GLUT2-F2 (3′ RACE in primer) | GGGAGATTACGACACCTCAAAAG |
| GLUT2-R1 (5′ RACE out primer) | TCATCCATGAGTAAACATCCTG |
| GLUT2-R2 (5′ RACE in primer) | CCACTGTCATGGCCACTG |
| GLUT2-F (real-time primer) | CGGTGAAACCGAACAGGAGT |
| GLUT2-R (real-time primer) | TTCTTTGAGATCGGGCCTGG |
| β-actin-F (real-time primer) | TCGTCCACCGCAAATGCTTCTA |
| β-actin-R (real-time primer) | CCGTCACCTTCACCGTTCCAGT |
| GK-F (real-time primer) | GCTTCCACTGGGATTCACCT |
| GK-R (real-time primer) | CGACGTTATTGCCTTCAGCG |
| PK-F (real-time primer) | CGAGATTGAGAACGGAGGCA |
| PK-R (real-time primer) | GTCCTTCTCAGACACTGCGG |
| PEPCK-F (real-time primer) | TCGCCTGGATGAAGTTCGAC |
| PEPCK-R (real-time primer) | GTCTTGGTGGAGGTTCCTGG |
| G6P-F (real-time primer) | TTCAGTGTCACGCTGTTCCT |
| G6P-R (real-time primer) | TCTGGACTGACGCACCATTT |

# 03

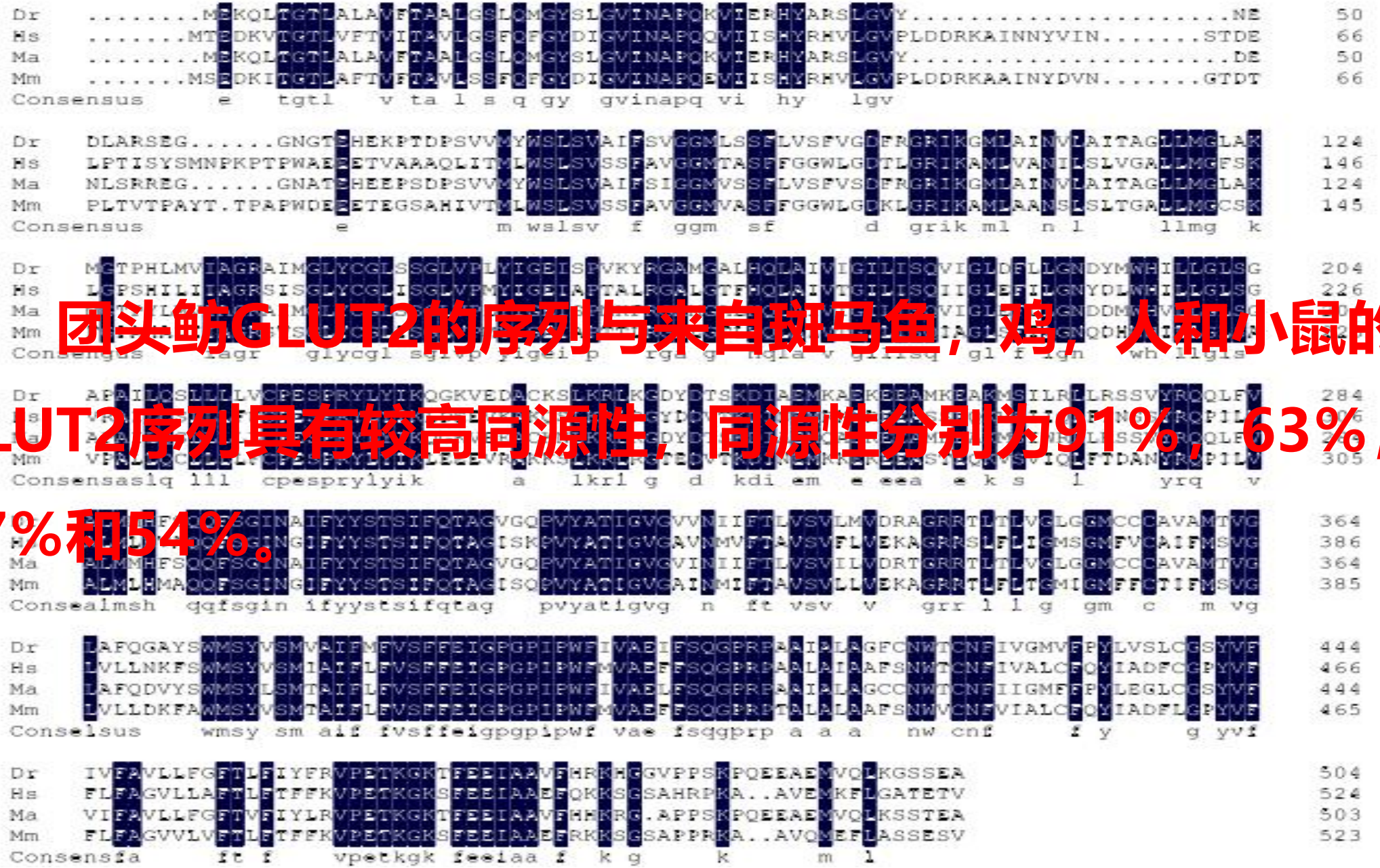
# 结果分析

# Glut2序列



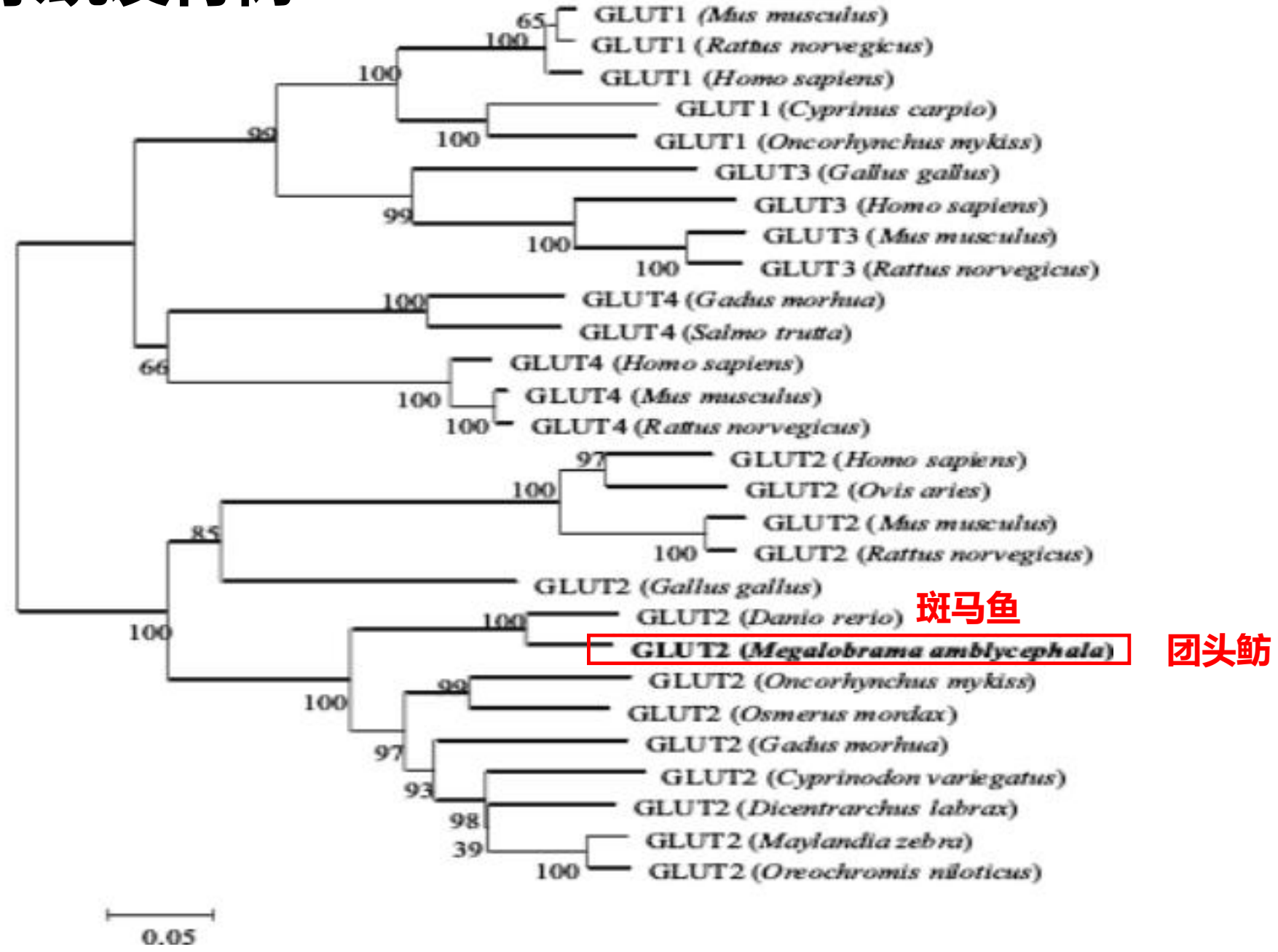
Glut2cDNA长度为2577bp，开放阅读框为1571bp，编码503个氨基酸，预测分子量为55.046 kDa，理论等电点为7.52。

# Glut2预测序列与其他生物已知序列对比



团头鲂GLUT2的序列与来自斑马鱼，鸡，人和小鼠的GLUT2序列具有较高同源性，同源性分别为91%，63%，57%和54%。

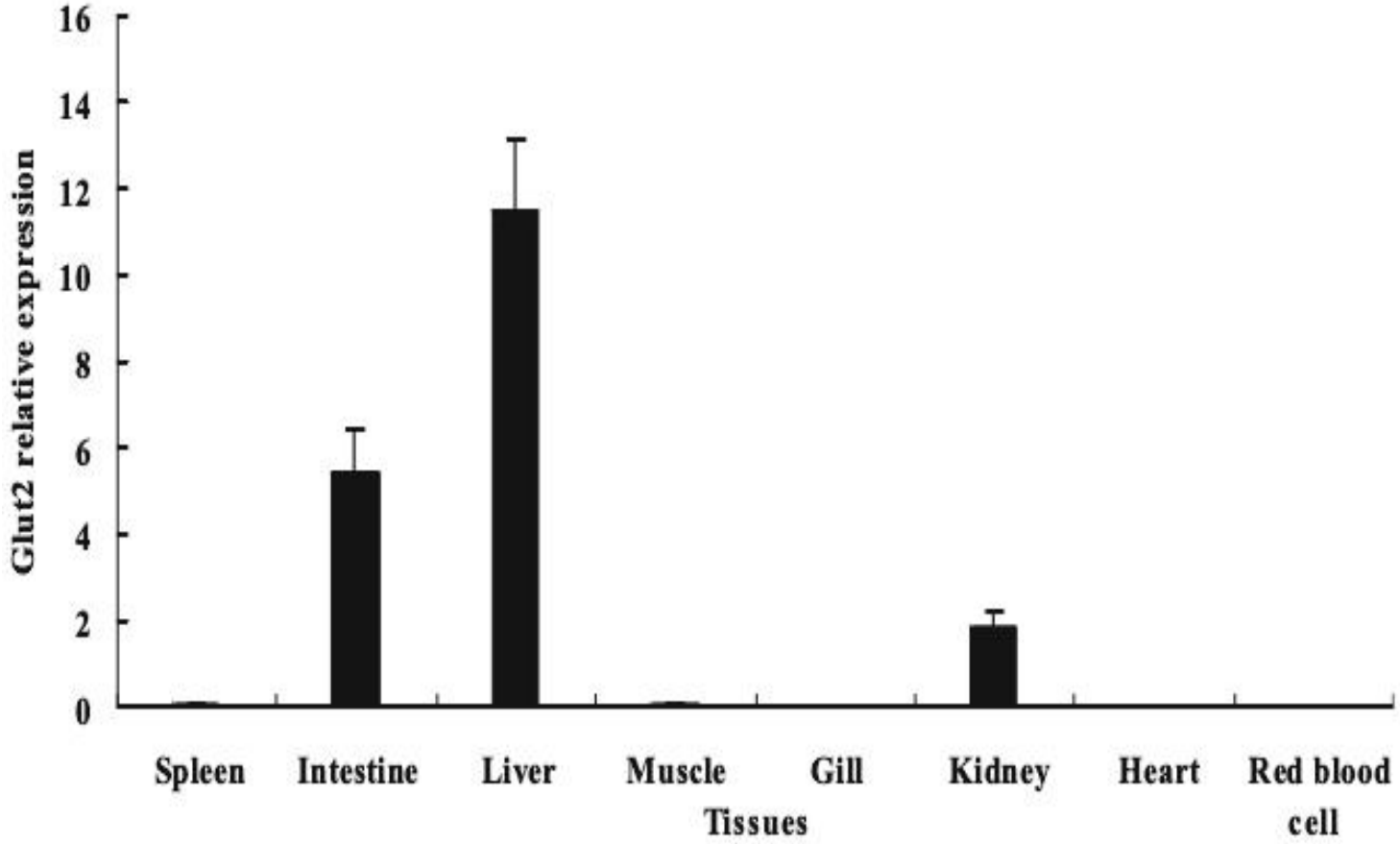
# Glut蛋白系统发育树




斑马鱼

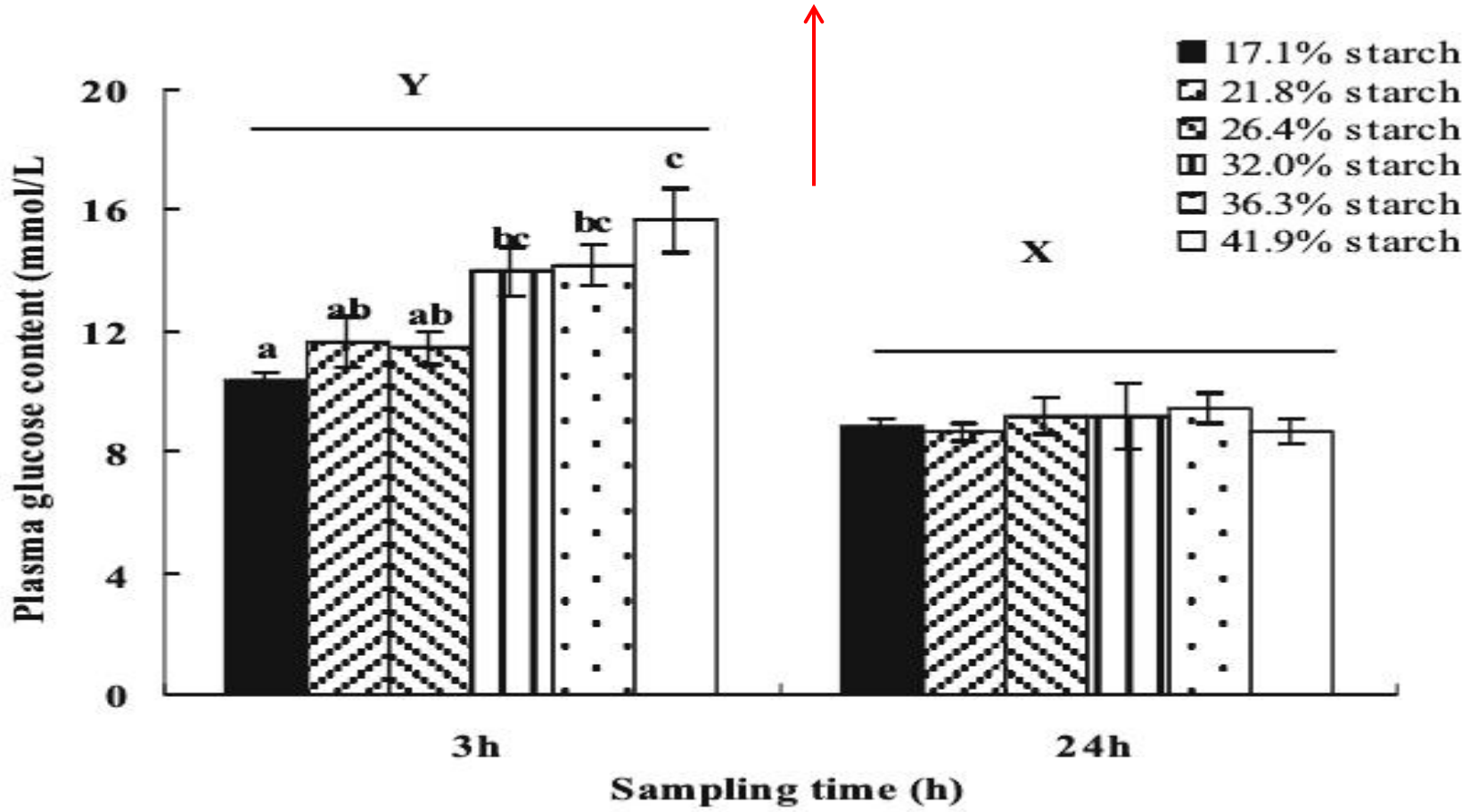
团头鲂

# 组织中Glut2表达量

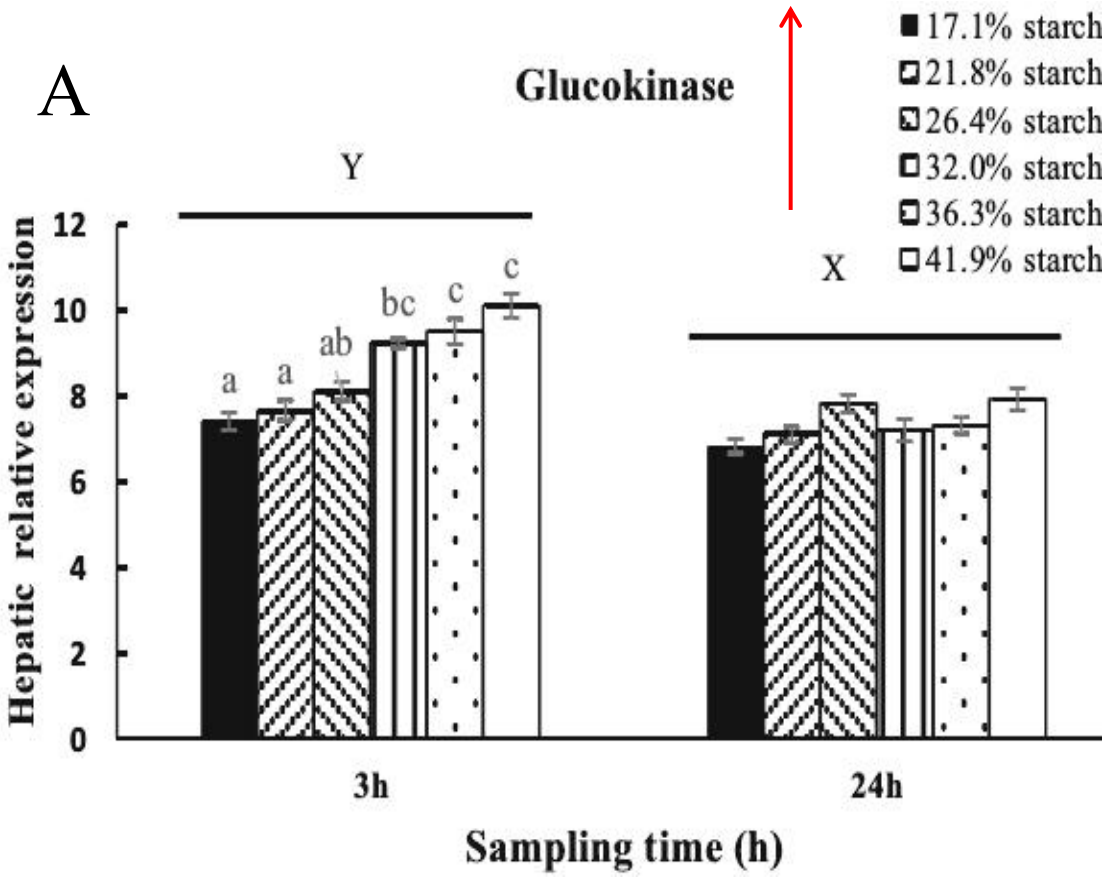



脾脏　　鳃　肾脏

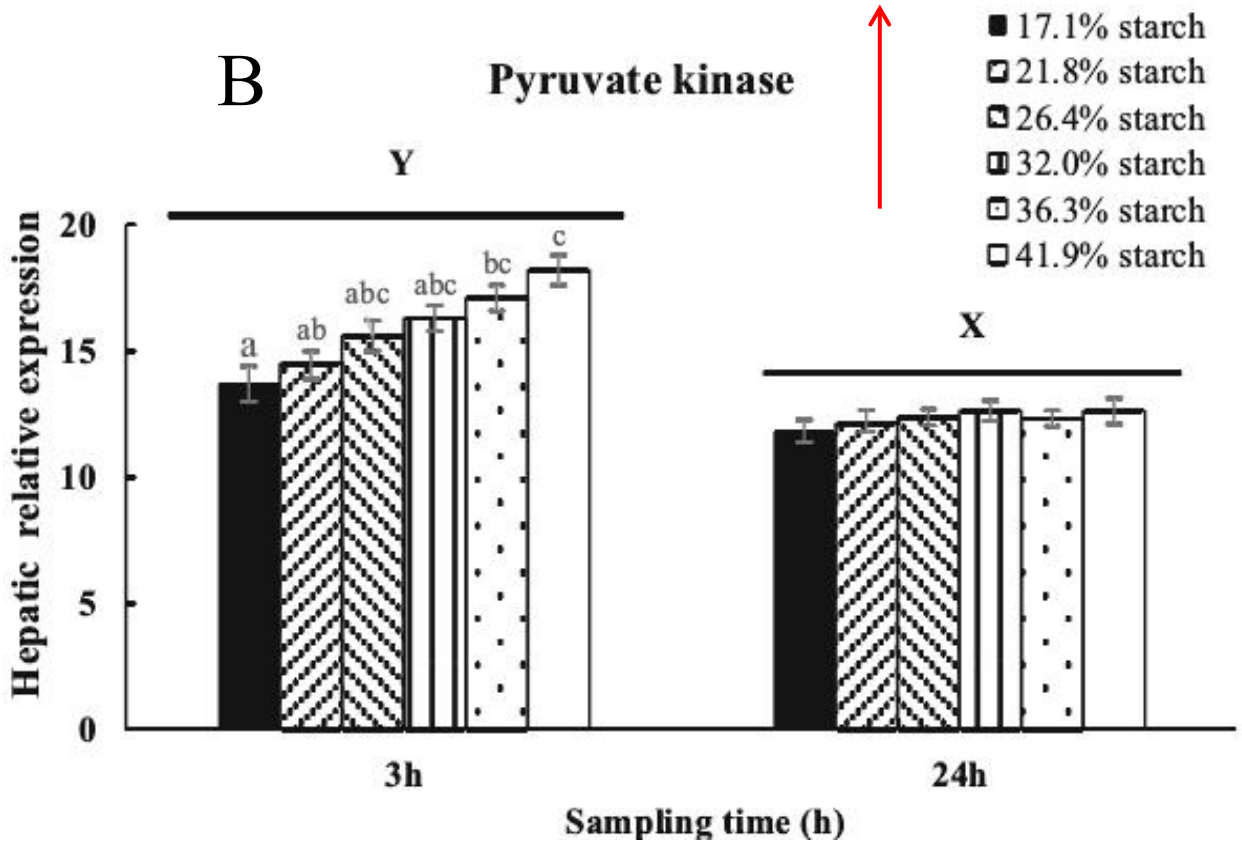
# 血浆葡萄糖含量


17.1% starch
21.8% starch
26.4% starch
32.0% starch
36.3% starch
41.9% starch
Y
X
a
ab
ab
bc
bc
c
20
16
12
8
4
0
Plasma glucose content (mmol/L
3h
24h
Sampling time (h)

# 糖酵解关键酶

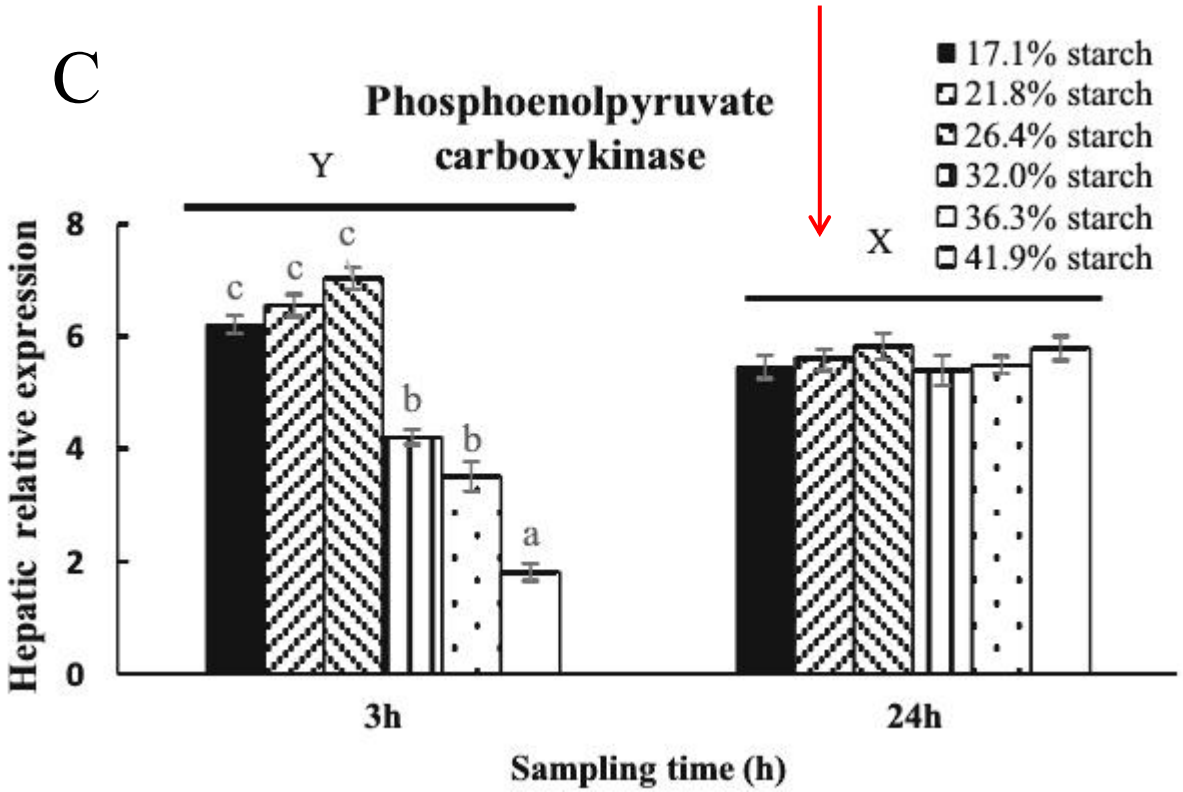



葡萄糖激酶

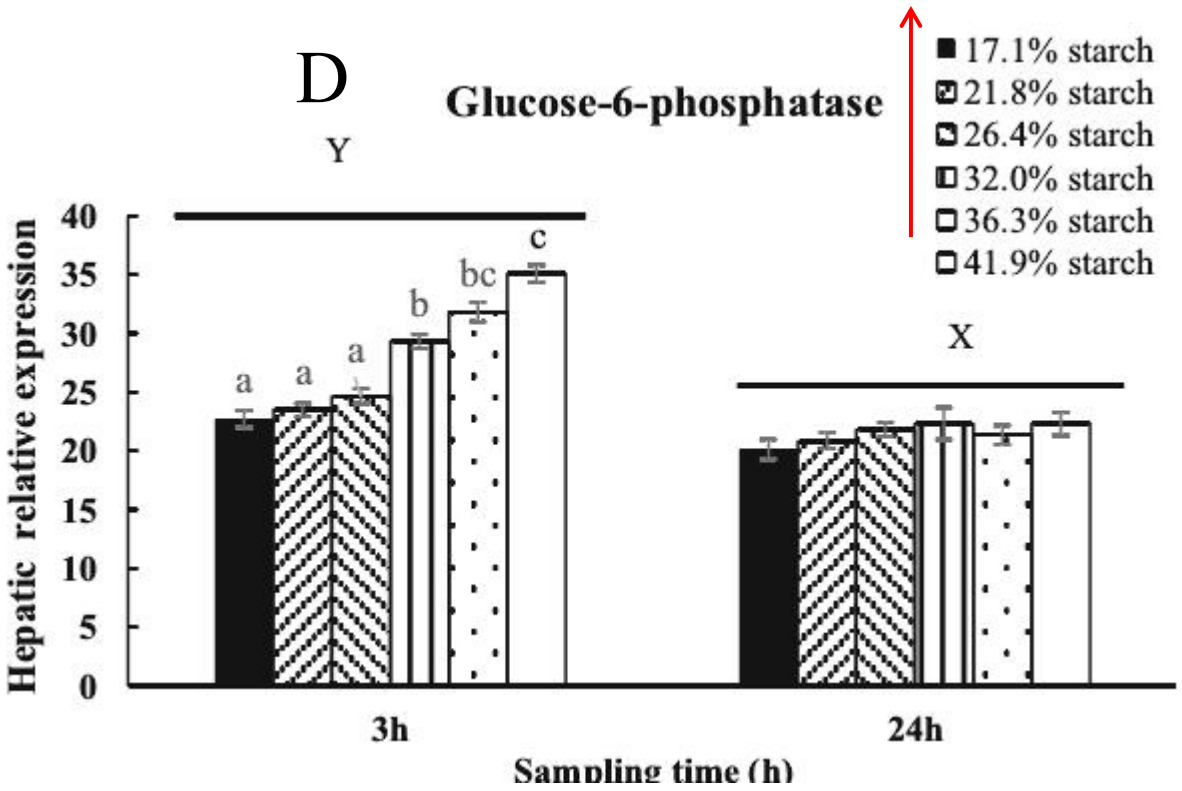



丙酮酸激酶

# 糖异生关键酶




磷酸烯醇式丙酮酸激酶




葡萄糖-6-磷酸酶

在虹鳟和海鲈中，G6P mRNA表达量无影响，金头鲷中，G6P mRNA表达量降低的。

# 04

# 总结

1.高膳食的碳水化合物可使血浆中葡萄糖浓度瞬时升高

2.高膳食的碳水化合物可增强肝脏和血液之间葡萄糖的转运，对Glut2的表达有调控作用

3.鱼对机体糖代谢调节能力的大小取决于膳食中可利用的碳水化合物的多少

# 05

# 思考

本文以团头鲂为研究对象，对Glut2分子特征进行了鉴定，并探究了不同水平的碳水化合物对糖代谢相关基因的影响，这使我们对Glut2有了更进一步的认识。

在其他鱼类（如鲤鱼、草鱼等）中，有关Glut2克隆和分子鉴定的信息很少，而碳水化合物对其他鱼类糖代谢的影响也鲜有报道，本文对这两方面的探究有一定的参考价值。

# 请各位老师批评指正！