

黑腹果蝇 *CG42741* 基因编码蛋白质结构分析及功能预测

于波 辛毅 赵春江 吴常信 邓学梅*

(中国农业大学 动物科学技术学院,北京 100193)

摘要 为深入了解黑腹果蝇 *CG42741* 基因的表达及其编码蛋白质的结构,利用半定量和生物信息学的方法对其进行了详细的研究。RT-PCR 结果显示黑腹果蝇 *CG42741* 基因在胚胎期、幼虫期和蛹期均有表达,但表达量比较低,只是在蛹期表达量相对升高。此外,通过生物信息学的方法对果蝇中 *CG42741* 基因所编码的蛋白质进行了结构与功能的预测。结果显示,*CG42741* 蛋白定位于细胞核内,其羧基末端含有 3 个串联的 C2H2 类型的锌指结构;它属于 KLF 家族蛋白,是一个转录调控因子,能够与富含 GC 的基因组序列特异结合,其功能可能与细胞的生长、增殖有关。

关键词 黑腹果蝇; 蛋白质结构预测; *CG42741* 基因; RT-PCR; KLF 家族

中图分类号 Q 969.462.2; Q 754

文章编号 1007-4333(2011)04-0088-07

文献标志码 A

Structural analysis and functional prediction of *CG42741* protein in *Drosophila melanogaster*

YU Bo, XIN Yi, ZHAO Chun-jiang, WU Chang-xin, DENG Xue-mei*

(College of Animal Science and Technology, China Agricultural University, Beijing 100193, China)

Abstract In this study, the *CG42741* gene expression were found at embryonic, larval and pupal stage by RT-PCR, but such expression was very low at all of the three stages. Comparative to embryonic and larval stages, the expression of the gene was higher at pupal stage. The structural analysis and functional prediction of *CG42741* protein also conducted in *Drosophila melanogaster*. Our data showed that this protein was characterized by three Cys2His2 zinc fingers located at the C-terminus and executed its function in nucleus. The protein belonged to the Kruppel-like family of transcription factors and could bind with GC-rich sites in genomic DNA. And we inferred the *CG42741* protein might play an important role in cell proliferation.

Key words *Drosophila melanogaster*; protein structure prediction; *CG42741* gene; RT-PCR; Kruppel-like factors

随着人类基因组计划的实施和推进,生命科学的研究已进入了后基因组时代,研究的重点已经集中到功能基因组学上,而对蛋白质功能的阐述就是其最主要的任务之一。蛋白质是生命活动的最终执行者,在细胞和生物体的生命活动过程中,起着十分重要的作用。有研究表明,一种蛋白质具有特定的某种功能,是因为它形成了一定的三维空间结构^[1]。从氨基酸序列到蛋白质三维结构的编码关系,被称为第二遗传密码^[2],并被列为 21 世纪生物科学的首

要任务^[3]。因此,要解释蛋白质功能行使的机理,就必须深入了解蛋白质的结构^[4]。

蛋白质结构的预测是从蛋白质氨基酸序列出发预测它的功能构象,对蛋白质结构预测进行研究对基础理论和实际应用都有重大意义。由于蛋白质工程技术的不断发展,已知的蛋白质一级序列数据远远超过结构数据,蛋白质空间结构测定的速度却远远落后于其氨基酸序列的测定速度^[5]。目前,已经得到的结构蛋白质与所有已知序列蛋白质的百分比

收稿日期: 2010-12-03

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30771535)

第一作者: 于波,博士研究生, E-mail: alexyu83@gmail.com

通讯作者: 邓学梅,教授,博士,主要从事动物分子数量遗传学研究, E-mail: deng@cau.edu.cn

不足 1%^[1],为此,从理论上对一个已知氨基酸序列的蛋白质进行空间结构的预测变得日益紧迫和重要。伴随着生物信息学的飞速发展,利用计算机手段预测蛋白质结构已成为获取蛋白质结构的最有潜力的方法之一^[6]。

在果蝇基因组中,CG42741 是一个编码基因,其细胞学定位于二号染色体右臂 59C2 区域,而分子位置定位在 18 899 290 ~ 18 929 143 bp。CG42741 基因的分子生物学功能及其参与的生物学过程都是未知的。本研究首先对 CG42741 基因在果蝇发育的 3 个重要时期,即胚胎期、幼虫期和蛹期进行了半定量 RT-PCR 的检测,然后通过生物信息学的方法对该基因编码的氨基酸序列进行了保守功能区、亚细胞定位、三级构象以及其功能的预测,旨在为下一步从分子角度深入研究该基因打下坚实的基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本研究所用的果蝇品系为标准野生型 CS,由北京生命科学所裘荣文研究员课题组提供。该品系在 25 ℃ 的恒温培养箱中饲养,相对湿度为 50%^[7]。

1.2 试验方法

1.2.1 RNA 的提取、纯化及 cDNA 的合成

收取胚胎期、幼虫期和蛹期的野生型黑腹果蝇

各 30 只,按照 RNAprep pure Tissue kit(北京天根生化科技有限公司)的说明书提取总 RNA。然后,用 DNase I 处理总 RNA 15 min,并用异丙醇和乙酸铵沉淀。吸取 1.5~2.0 μL 纯化的 RNA,用微量分光光度计 NANODrop2000/2000c(美国)在 260 和 280 nm 处检测 RNA 的吸光值,根据 260 和 280 nm 处的吸光值检测 RNA 纯度,-80 ℃ 保存。

本研究中,反转录用到的锚定引物有 4 条,如表 1 所示。然后按照 ImProm-II™ 反转录酶(Promega)的说明书合成 cDNA。

表 1 反转录锚定引物	
Table 1 Anchor primers used for transcription	
引物名称	上下游引物(5'→3')
H-T11G (2 μmol/L)	aagcttttttttttttg
H-T11C (2 μmol/L)	aagcttttttttttttc
H-T11A (2 μmol/L)	aagctttttttttttta
T18 (2 μmol/L)	ttttttttttttttttt

1.2.2 CG42741 基因的半定量 RT-PCR 检测

根据 Flybase ([http:// flybase. org/](http://flybase.org/)) 上的 CG42741 和 GAPDH2 基因序列,设计半定量 RT-PCR 引物,引物序列如表 2 所示,引物由上海英俊生物公司合成,其中 GAPDH 基因为本研究选择的内参持家基因。

表 2 半定量 RT-PCR 引物				
Table 2 Primers used for semi-RT-PCR				
引物名称	上下游引物(5'→3')	退火温度/℃	片段长度/bp	循环数
CG42741	gatccgaccctctgtcagca	60	113	28
	atcttgcgactccacccttc			
GAPDH	gaaattaaggccaaggttcagg	60	133	30
	gtaccaagagatcagcttc			

半定量 RT-PCR 反应在 GeneAmp PCR System 9700(ABI,美国)上进行。PCR 反应体系如下:2.0 μL 10×PCR 缓冲液,2.0 μL dNT P(2.5 mmol/L),0.5 μL primer-F(10 pmol),0.5 μL primer-R(10 pmol),1.0 μL 模板(cDNA),0.5 μL Taq 酶,补 ddH₂O 至 20 μL。10×PCR 缓冲液、dNTP、Taq 酶均为 TaKaRa(日本)公司产品。PCR 反应程序为:94 ℃ 5 min,94 ℃ 30 s,退火温度 60 ℃ 30 min,72 ℃ 1 min,循环数为 28(30),终延

伸 72 ℃ 10 min,最后 16 ℃ 保存。程序结束后,取 2 μL PCR 产物在 1% 的琼脂糖凝胶上检测。

1.2.3 CG42741 基因编码蛋白质的生物信息学分析

1)寻找保守的结构域。通过 ExPASy Proteomic Server(<http://expasy.org>)中的 ScanProsite(<http://expasy.org/tools/scanprosite/>)或 NCBI 网站上的 BlastP([http://blast. ncbi. nlm. nih. gov/](http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/))工具寻找目标蛋白中是否存在显著的位点、基序,从而鉴定未知蛋白属于哪一个已知的蛋白家族。

2)亚细胞定位方法。蛋白质的亚细胞定位与蛋白质的结构和功能关系密切相关,蛋白质必须处于合适的亚细胞定位才能发挥其功能^[8]。关于亚细胞定位的预测方法很多,本研究采用4个程序来对CG42741基因编码的氨基酸序列进行预测:①PSORT II,利用k邻近连接法得出某蛋白质可能位于某个亚细胞结构的可能性^[9];②YLoc,根据目的蛋白质的特征,在数据库中寻找具有相似特征且有注释的序列,从而确定目的蛋白的亚细胞学位置^[10];③KnowPredsite,原理与YLoc相似^[11];④Sherloc2,该数据库是基于氨基酸序列信息、本研究信息、发育演化以及蛋白质注释信息的整合,从而准确预测蛋白质的亚细胞位置^[12]。

3)3D结构预测。本研究对CG34271基因编码的蛋白质进行3D结构的预测采用的是CPHmodels 3.0 server (<http://www.cbs.dtu.dk/services/CPHmodels/>)^[13]。CPHmodels 3.0 server 是一个通过提交蛋白质一级结构在线预测其3D结构的软件,是将CPHmodels 2.0 server的优点和远程同源建模算法糅合在一起开发出来的。

在用ExPASy Proteomic Server中的ScanProsite或NCBI网站上的BlastP工具确定氨基酸序列中的保守结构域后,再用CPHmodels 3.0 server进行3D结构预测。该网站在输入了蛋白序列一级结构后,可以自动根据大量已知的蛋白质三维结构来预测序列已知而结构未知的蛋白质结构,并返回一个结构文件。将该结果文件用NCBI网站上三维VAST search软件(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/structure/VAST/vastsearch.html>)进行分析,便可以得到3D结构预测结果。将该结果用Cn3D软件打开,即可得到立体的三维空间图。

2 结果与讨论

2.1 CG42741基因的半定量RT-PCR检测结果

对提取的野生型黑腹果蝇胚胎期、幼虫期和蛹期的RNA分别取2.0 μL进行琼脂糖凝胶电泳检测。从电泳图(图1)可已看出,3个时期提取的总RNA的28S、18S和5S带型完整,无拖尾现象,说明RNA降解少,不含多糖和蛋白等杂质,可以用于下一步的半定量RT-PCR检测。

本研究以上述提取的3个时期的RAN反转录成的cDNA为模板,用目的基因CG42741和持家基因GAPDH的引物分别扩增,进行半定量RT-PCR

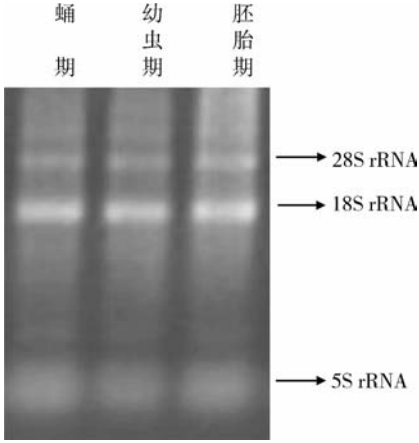


图1 野生型黑腹果蝇胚胎期、幼虫期和蛹期的总RNA提取结果

Fig. 1 RNA extracted from embryonic, larval and pupal stage of wide-type flies

检测,结果如图2所示。由图2可以看出,CG42741基因在胚胎期、幼虫期和蛹期都有表达,但是其表达量都很低,尤其是在胚胎期。3个时期相比较来说,CG42741基因在蛹期的表达量较高。CG42741基因半定量结果说明,该基因参与到果蝇整个发育过程中,而在蛹期的作用相对比较明显。

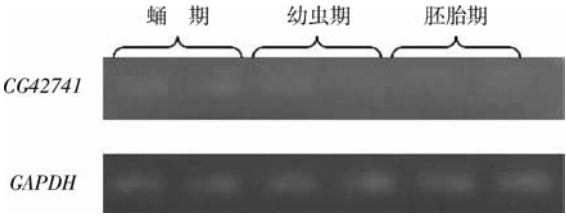


图2 CG42741基因在黑腹果蝇胚胎期、幼虫期和蛹期的半定量RT-PCR检测

Fig. 2 Detecting the expression of CG42741 gene in embryonic, larval and pupal stage by RT-PCR

2.2 CG42741基因编码蛋白质的生物信息学分析结果

初步的研究表明,CG42741基因编码蛋白质属于碱性蛋白,有潜在的跨膜区,没有信号肽的存在。为了进一步研究该基因的功能,本研究用生物信息学的方法对其编码的氨基酸序列及可能形成的高级结构进行了预测。

2.2.1 寻找保守的结构域

通过ExPASy Proteomic Server中的ScanProsite和NCBI网站上的BlastP对CG42741基因编码的氨基酸序列进行分析,本研究发现该序列在C末端

包含有 3 个 C2H2 结构域(图 3)。C2H2 是锌指结构中最为经典,也是最为普遍的一种结构,其代表有 TFⅢA^[14]和 Sp1^[15]。该结构由 28~30 个氨基酸残基组成,其中含有 2 个半胱氨酸和 2 个组氨酸残基,在这 2 个半胱氨酸和 2 个组氨酸对之间含有一个大约 12 个氨基酸残基区域(图 3(b))^[16]。保守序列为:(Tyr, Phe)-X-Cys-X₂₋₄-Cys-X₃-Phe-X₅-Leu-X₂-

His-X₂₋₆-His(X 为可变氨基酸)^[17]。锌指结构可以选择性的结合特异的 DNA 序列,从而调节靶基因的表达以适应生物体发育、分化、成熟等生命过程的需要。因此,CG42741 基因在果蝇基因组中编码的应该是一个转录调节因子,通过与特定的 DNA 靶序列或特定的蛋白质结合,来完成果蝇生长发育的调控。

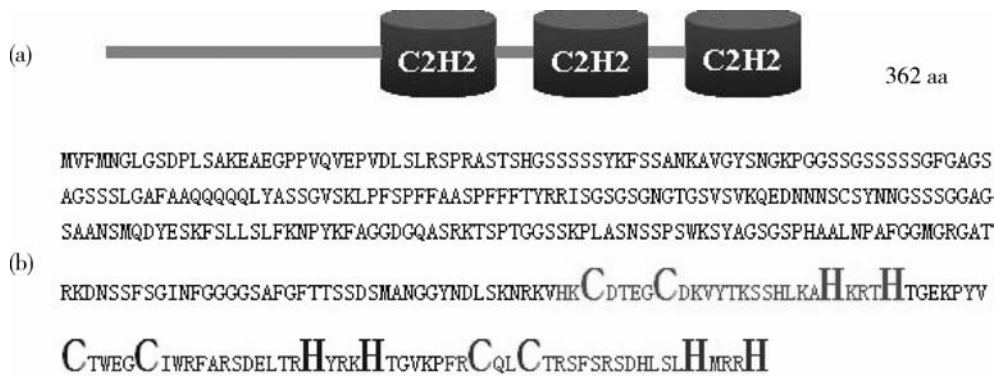


图 3 CG42741 基因编码蛋白质的 C 末端 3 个 C2H2 结构域

Fig. 3 Three C2H2 domains located at the C-side of CG42741 protein

2.2.2 CG42741 基因编码蛋白的亚细胞定位预测

利用生物信息学的方法和多种蛋白质亚细胞定位软件对 CG42741 基因编码的蛋白质进行亚细胞定位预测分析。在所采用的 4 个数据库预测的结果中,CG42741 基因编码的蛋白质位于核中的概率最大,分别为 PSORT II-95.70%、YLoc-99.96%、KnowPredsite-94.22% 以及 Sherloc2-97.00%,所以该蛋白定位于细胞核中。这个结果也佐证了利用 ExPASy Proteomic Server 中的 ScanProsite 对氨基酸序列保守区域分析的结果。

2.2.3 3D 结构预测

本研究通过 CPHmodels 3.0 server 来预测 CG42741 基因编码蛋白质的结构,其实是基于同源建模的方法^[17]。同源建模方法是通过在结构数据库——PDB 中搜索与目的蛋白同源的且已知结构的蛋白质,以此作为模板,利用这些同源蛋白质的结构来建立目的蛋白的结构模型,并进行优化得出目的蛋白质的结构。当从 PDB 数据库中找出的结构蛋白模板与目的蛋白的序列相似度大于 70%,那么通过同源建模方法预测出的结构几乎可以同实验获得的结构完全一样。

图 4 是对蛋白 CG42741 预测结果。从图 4(a)

可知,CG42741 蛋白有 3 个 βα 的结构串联在一起,位于 C 末端。该结构与锌指结构中由两端反平行的 β-折叠和一段 α-螺旋组成的稳定的“指头”状结构相似^[16]。根据图 4(b)中的输出结果,可以看出目的蛋白与已知结构蛋白的相似性达到了 80.2%,因此这个预测结果是非常准确的。

2.2.4 CG42741 蛋白的功能预测

通过 NCBI 网站上的 BlastP 对 CG42741 基因编码的氨基酸序列进行分析,发现该蛋白与 KLF 转录因子家族成员具有较高的保守性,尤其是 C 末端的 3 个 C2H2 结构。KLFs(Kruppel-like factors)家族是真核生物中一大类基础转录因子(BTEBP),最早发现于果蝇胚胎中的发育调控因子 Kruppel,结构上和 Sp1 蛋白因子(Specific protein 1)家族高度相似,都具备羧基末端 3 个串联重复的 C2H2 类型的锌指结构,负责与相关的 GC 和 CACCC 盒结合而发挥作用^[18]。KLFs 家族成员都具有高度相似的 DNA 结合活性,而且还可以通过蛋白质-蛋白质互作决定 DNA 结合的特异性^[19]。目前发现 KLFs 共含有 17 个家族成员,包括 KLF1-KLF17。在个体发育过程中,该家族成员在细胞分化、细胞信号转导、细胞增殖及凋亡和血管生成等生物学过程中发

```
Retrieving template ...

Entry: 2ebt
Chain: A

Making profile-profile alignment ...

Score:      209.5 bits
Identity:    80.2%

Query: 1    DLSKNRKVHKCDTEGCDKVYTKSSHLKAHKRTHRTGKPYVCTWEGCIWRFARSDDELTRHY 60
            DL K R++H CD  GC KVYTKSSHLKAH RTHTGKPY CTWEGC WRFARSDDELTRHY
Templ: 1    DLEK-RRIHVCDYPGCTKVYTKSSHLKAHLRTHRTGKPYKCTWEGCDWRFARSDDELTRHY 60

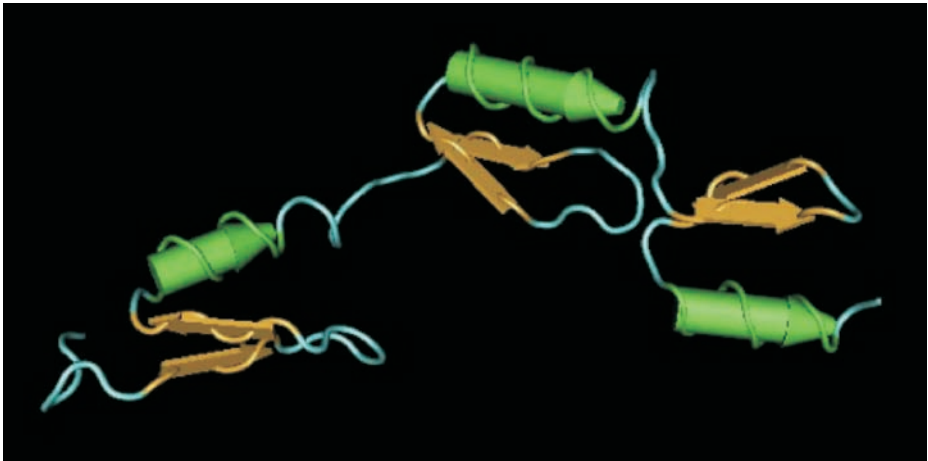
Query: 61    RKHTGVKPFRCQLCTRSFSRSDHLSLHMRRH 91
            RKHTG KPF+C +C RSFSRSDHL+LHM+RH
Templ: 61    RKHTGAKPFQCGVCNRSFSRSDHLALHMKRH 91

Modeling ...

A Z-score above 10 indicates a high reliability model

File with coordinates for model in pdb format: query.pdb
```

(a)利用 CPH models 2.0 server 寻找 CG42741 蛋白一级序列的同源序列,返回的一个结果文件



(b)CG42741 蛋白 C 末端 3 个 C2H2 结构域的 3D 示意图

图 4 CG42741 蛋白质的 3D 预测结构

Fig. 4 Predicting 3D structure of CG42741 protein

挥作用。

研究结果显示,10 个物种 KLF8 基因编码的全部氨基酸的同源性为 75.64%,而 3'端的 3 个 C2H2 结构(除果蝇由 94 个氨基酸组成外,其余 9 个物种都由 97 个氨基酸组成)的同源性达到了 94.22%(图 5(a));同样,13 个物种 KLF12 基因编码的全部氨基酸的同源性为 85.76%,3'端的 3 个 C2H2 结构(果蝇由 90 个氨基酸组成外,其余 12 个物种都由 93 个氨基酸组成)的同源性达到了 97.66%(图 5(b))。因此,果蝇的 CG42741 基因编码的蛋白质与 KLFs 家族成员 KLF8(图 5(a))、KLF12(图 5(b))

和 KLF5 在羧基端有高的保守性,特别是 3 个 C2H2 结构。KLF8 最先被认为是一种转录抑制因子,而最新的研究表明它是黏着斑激酶(Focal adhesion kinase,FAK)下游的作用靶点,通过激活 Cyclin D1 启动子来调控细胞周期进程^[20]。此外,有报道称 KLF8 基因在正常组织中低表达,而在恶性肿瘤中高表达^[21],故推断 KLF8 可能与肿瘤的转移、致癌性转化、上皮间质转型密切相关^[22]。目前,关于 KLF12 的报道比较少,只知道 KLF12 是一个转录抑制因子,可以与 activator protein-2 α (AP-2 α)上游的特定序列结合,从而抑制该基因的表达,而这

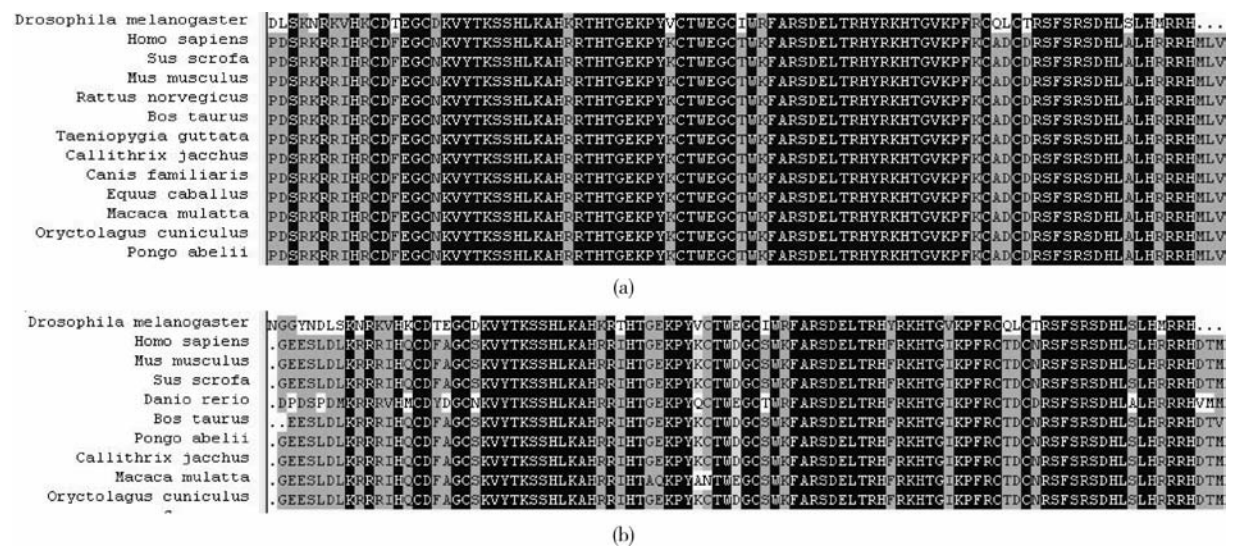


图 5 果蝇的 CG42741 蛋白质与不同物种间 KLF8(a)和 KLF12(b)蛋白的多重比较

Fig. 5 Multiple align of CG42741 protein in *Drosophila* and KLF8 (a),KLF12 (b) protein in different species, respectively

一抑制作用是在另一抑制子 CtBP1 参与下共同完成的^[23]。KLF5 在细胞增殖方面其重要作用,通过激活细胞周期的关键基因促进细胞生长^[24]。此外,另有报道称 KLF5 参与炎症反应^[25]和脂肪组织的合成^[26]。

由以上研究发现,CG42741 蛋白与 KLFs 各成员均具有高度相似的 DNA 结合活性,通过氨基酸的特异激活区和抑制区而与共激活或共抑制因子作用发挥其调节转录的功能。而判断 CG42741 蛋白具有激活或是抑制功能,主要依赖与它们结合的启动子以及相互作用的共调节因子的功能。从氨基酸比对结果中可见,KLFs 家族成员的研究成果对 CG42741 基因可能具有的功能做了预测,为进一步研究该基因提供了一个很好的基础。

3 结 论

通过半定量 RT-PCR 的方法发现 CG42741 基因在黑腹果蝇胚胎期、幼虫期和蛹期均有表达,表达量比较低,只是在蛹期表达量相对较高。此外,还对 CG42741 基因编码的蛋白质进行了生物信息学分析,可以得出以下结论:1)结构上,羧基端包含 3 个串联的 C2H2 结构,且高度保守;2)CG42741 蛋白定位于细胞核,是一个转录调控因子;3)该蛋白应属于 KLF 家族;4)CG42741 蛋白可以识别基因组中富含 GC 的序列;5)CG42741 蛋白可能是细胞周期中的一个调控因子,参与细胞生长过程。

参 考 文 献

[1] 王志珍,邹承鲁.后基因组-蛋白质组研究[J].生物化学与生物物理学报,1998,30:533-539

[2] Jaenicke R. Protein folding local structures, omain, subunits, and assemblies[J]. Biochemistry, 1991,30:3148-3160

[3] 邹承鲁.第二遗传密码-新生肽链及蛋白质折叠的研究[M].长沙:湖南科学技术出版社,1997

[4] Lee D, Redfern O, Orengo C. Predicting protein function from sequences and structure[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2007, 8 (12):995-1005

[5] 孙侠,殷志祥.蛋白质结构预测的理论方法及阶段[J].生物学杂志,2007,24(1):15-17

[6] Dodson E J. Computational biology: Protein predictions[J]. Nature, 2007, 450(7167):176-177

[7] 李红伟,连林生,赵春江,等.黑腹果蝇紫眼卷翅遗传规律研究[J].中国农业大学学报,2006,11(5):8-12

[8] Fujiwar Y, Asogawa M. Prediction of subcellar localization using amino acid composition and order [J]. Genome Informatics, 2001, 12:103-112

[9] Horton P, Nakai K. Better prediction of protein cellular localization sites with the k nearest neighbors classifier[J]. Intelligent Systems for Molecular Biology, 1997, 5:147-152

[10] Briesemeister S, Rahnenführer J, Kohlbacher O. Going from where to why-interpretable prediction of protein subcellular localization[J]. Bioinformatics, 2010, 26(9):1232-1238

[11] Lin H N, Chen C T, Sung T Y, et al. Protein subcellular localization prediction of eukaryotes using a knowledge-based approach[J]. BMC Bioinformatics, 2009, 10(Suppl 15):S8

[12] Briesemeister S, Blum T, Brady S, et al. SherLoc2: a high-

- accuracy hybrid method for predicting subcellular localization of proteins[J]. *J Proteome Res*, 2009, 8(11): 5363-5366
- [13] Nielsen M, Lundegaard C, Lund O, et al. CPHmodels-3.0-remote homology modeling using structure-guided sequence profiles[J]. *Nucleic Acids Research*, 2010, 38: W576-581
- [14] Miller J, McLachlan A D, Klug A. Repetitive zinc-binding domains in the protein transcription factor III A from *Xenopus oocytes*[J]. *Embo J*, 1985, 4(6): 1609-1614
- [15] Rotheneder H, Geymayer S, Haidweger E. Transcription factors of the Sp1 family; interaction with E2F and regulation of the murine thymidine kinase promoter[J]. *J Mol Biol*, 1999, 293(5): 1005-1015
- [16] Harrison S C. A structural taxonomy of DNA-binding domains [J]. *Nature*, 1991, 353(6346): 715-719
- [17] John B, Sali A. Comparative protein structure modeling by iterative alignment, model building and model assessment[J]. *Nucleic Acids Res*, 2003, 31(14): 3982-3992
- [18] Kaczynski J, Cook T, Urrutia R. Sp1- and Kruppel-like transcription factors[J]. *Genome Biology*, 2003, 4(2): 206
- [19] Song A, Patel A, Thamtrakoln K, et al. Functional domains and DNA-binding sequences of RFLAT-1/KLF13, a Kruppel-like transcription factor of activated Tlymphocytes[J]. *J Biol Chem*, 2002, 277: 30055-30065
- [20] Zhao J, Bian Z C, Yee K, et al. Identification of transcription factor KLF8 as a downstream target of focal adhesion kinase in its regulation of cyclin D1 and cell cycle progression[J]. *Mol Cell*, 2003, 11(16): 1503-1515
- [21] Wang X, Urvalek A M, Liu J, et al. Activation of KLF8 transcription by FAK in human ovarian epithelial and cancer cell[J]. *J Biological Chemistry*, 2008, 283(20): 13934-13942
- [22] Wang X, Zhao J. KLF8 transcription factor participates in oncogenic transformation[J]. *Oncogene*, 2007, 26(6): 456-461
- [23] Imhof A, Schuierer M, Werner O, et al. Transcriptional regulation of the AP-2a promoter by BTEB-1 and AP-2rep, a novel wt-1/egr-Related zinc finger repressor[J]. *Molecular and Cellular Biology*, 1999, 19(1): 194-204
- [24] Bateman N W, Tan D, Pestell R G, et al. Intestinal tumor progression is associated with altered function of KLF5[J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(13): 12093-12101
- [25] Aizawa K, Suzuki T, Kada N, et al. Regulation of platelet-derived growth factor-A chain by Krüppel-like factor 5: new pathway of cooperative activation with nuclear factor-kappaB [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(1): 70-76
- [26] Oishi Y, Manabe I, Tobe K, et al. Krüppel-like transcription factor KLF5 is a key regulator of adipocyte differentiation[J]. *Cell Metab*, 2005, 1(1): 27-39

(责任编辑: 苏燕)