

选择性多聚腺苷酸化及 microRNAs 对绵羊 ACSL1 基因表达的影响

曹阳^{1,2} 张立春¹ 于永生¹ 马惠海¹ 刘宇¹ 曹阳^{1*}

(1. 吉林省农业科学院 动物生物技术研究所, 吉林 公主岭 136100;

2. 浙江省农业科学院 畜牧兽医研究所, 杭州 310021)

摘要 为探究长链脂酰辅酶 A 合成酶(Long-chain acyl-CoA synthetases, ACSLs)在绵羊脂肪组织的表达规律, 利用 cDNA 末端快速扩增技术(RACE)和双荧光素酶活性检测系统等方法进行研究。结果表明:1) 绵羊 ACSL1 基因因选择性多聚腺苷酸化(Alternative polyadenylation, APA)存在 2 个不同长度的 3'UTR;2)较短的 3'UTR 在绵羊前体脂肪细胞诱导分化前期更活跃, 并且短 3'UTR 更有助于 ACSL1 蛋白表达;3) miR-202、miR-449a、miR-124a、miR-218 均可与 ACSL1 3'UTR 结合, 降低荧光素酶活性, 其中 miR-218 通过与 ACSL1 3'UTR 的 1 264~1 271 bp 处结合可显著降低 ACSL1 表达。综上, ACSL1 基因因选择性多聚腺苷酸化存在不同长度的 3'UTR, 且短 3'UTR 有助于基因表达;miR-218 可显著下调 ACSL1 基因表达。本研究为绵羊 ACSL1 基因的进一步研究提供理论依据。

关键词 选择性多聚腺苷酸化; ACSL1; microRNA; 基因表达

中图分类号 S826.8

文章编号 1007-4333(2022)01-0126-08

文献标志码 A

Effects of alternative polyadenylation and microRNAs on ACSL1 gene expression in sheep

CAO Yang^{1,2}, ZHANG Lichun¹, YU Yongsheng¹, MA Huihai¹, LIU Yu¹, CAO Yang^{1*}

(1. Institute of Animal Biotechnology, Jilin Academy of Agricultural Science, Gongzhuling 136100, China;

2. Institute of Animal Husbandry and Veterinary, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310021, China)

Abstract In order to investigate the expression of long-chain acyl-CoA synthetase (ACSLs) in sheep adipose tissue, cDNA end rapid amplification technology (RACE) and dual luciferase activity detection system were used. The results showed that: 1) There were two different length 3'UTRs in sheep ACSL1 due to alternative polyadenylation (APA). 2) The shorter 3'UTR was more active in the early differentiation of sheep preadipocytes, and was more conducive to the expression of ACSL1 protein. 3) MiR-202, miR-449a, miR-124a and miR-218 can combine with ACSL1 3'UTR to reduce dual luciferase activity. MiR-218 can significantly reduce ACSL1 expression by binding to the longer 3'UTR of ACSL1 at 1 264 - 1 271 bp. In general, ACSL1 gene contains 3'UTRs of different lengths due to alternative polyadenylation. The short 3'UTR has a positive effect in the process of gene expression; miR-218 plays an important role in regulating ACSL1 gene expression. This study provides more theoretical basis for the study of sheep ACSL1 gene.

Keywords APA; ACSL1; microRNA; gene expression

许多基因在转录过程中存在多个多聚腺苷酸化位点, 从而形成不同长度的 3'UTR 现象, 称为选择性多聚腺苷酸化 (Alternative polyadenylation,

APA)。APA 在高等真核生物的转录中是一种普遍存在的现象, 人类中 50% 以上、小鼠 30% 以上的基因存在 APA 现象^[1], APA 调控基因表达, 从而调

收稿日期: 2021-03-30

基金项目: 吉林省自然科学基金项目(20190201161 JC); 财政部和农业农村部; 国家现代农业产业技术体系资助项目(CARS38)

第一作者: 曹阳, 助理研究员, 主要从事草食家畜育种研究, E-mail: 379630716@qq.com

通讯作者: 曹阳, 副研究员, 主要从事动物遗传育种研究, E-mail: caoyang003@163.com

控该基因的特定生物学功能。基因不同长度的 3'UTR 会调控蛋白表达,较短 3'UTR 的转录本会逃避可能与长 3'UTR 结合的 microRNAs 的抑制,并且不同长度的 3'UTR 转录本的亚细胞定位不同^[2]。研究表明,APA 对转录活性的调控似乎是一种广泛机制^[3],细胞外刺激同样能诱导 APA 现象的发生^[4],因此,APA 在调控基因稳定、翻译和转运过程中有重要作用,特别是 3'UTR 上与 microRNAs 结合的位点^[5-6]。MicroRNA 是指长度为 22 个核苷酸的非编码单链 RNA,通过基因 3'UTR 上的结合位点调控基因表达,在细胞受到刺激和增殖过程中都会发生变化。MicroRNAs 同样被证明是潜在脂肪形成的调节剂,通过与靶向基因结合调控基因表达,这一特征在脂肪细胞分化和脂滴的生成这些脂质代谢中有调节作用,miR-27a^[7]、miR-22^[8]、miR-335^[9]、miR-122^[10]和 miR-155^[11]等 microRNAs 都被证明对脂肪的生成存在抑制作用。因此,APA 和 microRNAs 在基因表达过程中的作用值得更深入研究。

ACSLs 是酯酰 CoA 合成所必需的酶。它能够活化游离脂肪酸合成酯酰 CoA 将并引导到特定的代谢通路中^[12]。ACSL1 含有多个启动子,导致 *ACSL1* 存在多个转录本,不同转录本在不同组织中具有不同的功能^[13]。许多 microRNAs 会通过与其结合来影响脂肪沉积。有研究表明 miR-205 能通过靶向 *ACSL1* 基因来调节肝癌细胞的脂代谢,破坏肝癌细胞的脂肪生成^[14]。Bta-miR-181a 通过靶向 *ACSL1* 基因促进牛乳腺上皮细胞中 TAG 的合成,从而调节牛乳脂肪的合成^[15]。在肉鸡腹部脂肪沉积的研究中发现 miR-19b-3P 能够靶向 *ACSL1* 基因,使 *ACSL1* 基因下调并促进脂肪细胞的增殖^[16]。因此,microRNAs 对绵羊 *ACSL1* 基因表达的影响同样值得探究。本研究通过对 *ACSL1* 基因 3'UTR 克隆和双荧光素酶检测确定 microRNAs 对 *ACSL1* 基因表达的影响,明确绵羊 *ACSL1* 基因表达规律,以期分析 *ACSL1* 基因在绵羊脂肪代谢的作用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验所用绵羊前体脂肪细胞、293T 细胞和脂肪组织储存于吉林省农业科学院动物生物技术研究

1.2 试验方法

1.2.1 cDNA 末端快速扩增技术

根据 Genbank 公布的 *ACSL1* 基因序列信息(登录号:XM_015104562.2),依照 RACE 引物设计原则,使用 Primer Premier 6.0 设计引物 SP1、SP2、SP3 和 SP4。使用 RACE 试剂盒(Takara)进行扩增。

1.2.2 RT-PCR

根据克隆测序所得的序列设计引物,检测不同长度的 3'UTR 在诱导分化过程中表达量的变化。引物序列如下表 1 所示。

荧光定量 PCR 反应体系及条件:2×PCR Mix 10 μL,上下游引物各 10 mmol/L,cDNA 1 μL,ddH₂O 补齐至 20 μL。95 °C 5 min,95 °C 10 s,60 °C 15 s,72 °C 20 s,从第二步开始 40 个循环。95 °C 5 s,65 °C 1 min,然后温度以 5 °C/s 的速率从 65 °C 增加到 97 °C,最后温度降到 40 °C。

1.2.3 载体构建

microRNAs 模拟物、抑制物购自上海吉玛制药技术有限公司。通过克隆得到不同长度的 3'UTR,分别构建 pmiR-GLO 载体,载体构建由上海吉玛制药技术有限公司完成。在 *ACSL1* 基因 3'UTR 1 264~1 271 bp 处定点突变,突变序列由上海吉玛制药技术有限公司生物合成和测序,并连接到 pmiR-GLO 载体上。

ACSL1 基因过表达载体构建:以绵羊前体脂肪组织为模版,RT-PCR 扩增目的片段,与 pbi-CMV3 载体双酶切后(*Bam*HI 和 *Not*I),经 T4 连接酶(Transgen)连接,转化后挑取阳性克隆,PCR 鉴定,送生工生物工程(上海)有限公司测序。

1.2.4 双荧光素酶活性检测

microRNAs 模拟物与上述表达载体利用脂质体法分别共转染至 293T 细胞,细胞转染后 24 h,收集细胞检测细胞内双荧光素酶活性(Promega)。去除旧培养基,PBS 清洗 2 次,加入 250 μL 稀释好的 1×Passive lysis buffer,置于水平摇床室温下晃动 15 min,使细胞被动裂解。在管中加入 100 μL Luciferase assay buffer II,加入 20 μL 细胞裂解液,混合均匀后,检测萤火虫荧光素酶的活性。检测后,在原管中迅速加入 100 μL Stop&Glo® Reagent,混匀检测海肾荧光素酶活性。计算比值(萤火虫荧光素酶的活性 RULs1/海肾荧光素酶活性 RULs2)。

1.2.5 Western blot

使用裂解缓冲液(RIPA, Thermo Scientific)收集细胞蛋白质,并使用增强型BCA蛋白质测定试剂盒(Beyotime)测定蛋白质质量浓度。蛋白质样品在95℃下变性10 min,在12%SDS-PAGE凝胶中分离,并在200 mA转膜(PVDF)90 min。将膜用TBST洗涤3次,然后在室温下用5%脱脂乳封闭2 h。加入一抗(兔抗, ACSL1, Bioss, 货号: bs5022R, 1:1 000)在4℃下孵育过夜,并与相应

的二抗(羊抗兔, anti-rabbit, CST, 货号: 14708, 1:2 000)在室温下孵育1.5 h。将膜用TBST洗涤3次,并通过ECL-Plus试剂盒(Beyotime)处理后拍照。

1.2.6 统计分析

进行3次独立的生物学实验,并计算相应的平均值。所有数据均以平均值±标准误差的形式计算,所有统计分析进行 t 检验。 $P<0.05$ 的差异为显著差异, $P<0.01$ 为极显著差异。

表1 本研究中用到的引物信息

Table 1 Information of primers used in the study

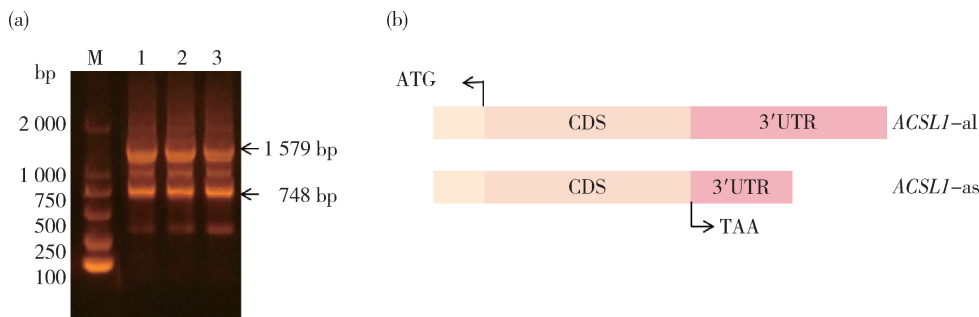
引物名称 Primer name	引物序列(5'-3') Sequence (5'-3')	目的片段长度/bp Product size
SP1	CCTTGGCAGCCAGATAATTCA	
SP2	GGACAAGCAAACACCACGCTGA	450
SP3	CTGGCACAAGGGGAGTACATAGCTCC	750
SP4	TTCGGAATTATTTTCAGGTCACAGATCGATG	1 570
ACSL1-as-F	CAGTGAAGCAAAGGGCAG	
ACSL1-as-R	AGGCGACAGATGGAGGAA	160
ACSL1-al-F	AACTGTCCACTTTTCCTTTG	
ACSL1-al-R	GCATTTATTTATCACCATCC	215

2 结果与分析

2.1 诱导分化不同时期 ACSL1 基因 3'RACE 扩增

通过3'RACE检测ACSL1 3'UTR在诱导分化不同时期的表达,并克隆3'UTR序列,发现ACSL1基因存在2个不同长度的3'UTR,长度分

别为1 579和748 bp(图1(a)),2个不同转录本具有相同的编码区。ACSL1基因2个长度的3'UTR在不同诱导分化时期都有表达。比对不同长度的3'UTR的核苷酸序列,两者相差831 bp。带有不同长度的3'UTR的ACSL1基因分别命名为ACSL1-al和ACSL1-as(图1(b))。



Lane M: DL2000 Plus DNA Marker; Lane 1, 2, 3: 诱导分化 0, 4 和 8 d 绵羊脂肪细胞引物 SP4 3'RACE

Lane M: DL2000 Plus DNA Marker; Lane 1, 2, 3: Sheep adipocyte primer SP4 3'RACE after induction of differentiation 0, 4, and 8 days

图1 诱导分化不同时期 ACSL1 基因 3'RACE 扩增(a)和 ACSL1 基因变异体示意图(b)

Fig. 1 3'RACE PCR result of sheep ACSL1 gene at different stages of induced differentiation (a) and schematic illustration of ACSL1 (b)

qRT-PCR 检测不同长度 3'UTR 表达变化,绵羊 *ACSL1* 基因 2 个不同长度的 3'UTR 表达量变化与 *ACSL1* 基因趋势相一致,随着绵羊前体脂肪细胞被诱导分化,在诱导分化第 4 天达到最高值(图 2(a))。根

据 2 种不同长度的 3'UTR 在诱导分化过程中表达量的比值发现在分化前期表达量比值下降(图 2(b)),所以 *ACSL1*-as 的 3'UTR 表达量比 *ACSL1*-al 增长速度更快,这表明 *ACSL1*-as 在诱导分化前期更活跃。

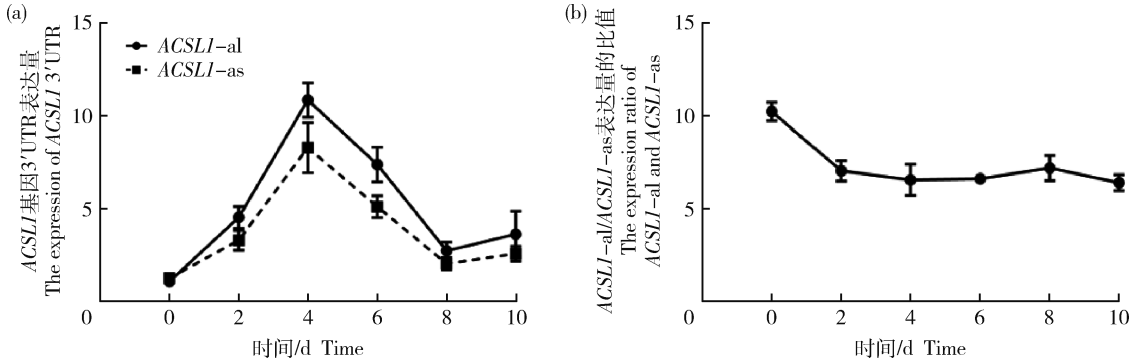


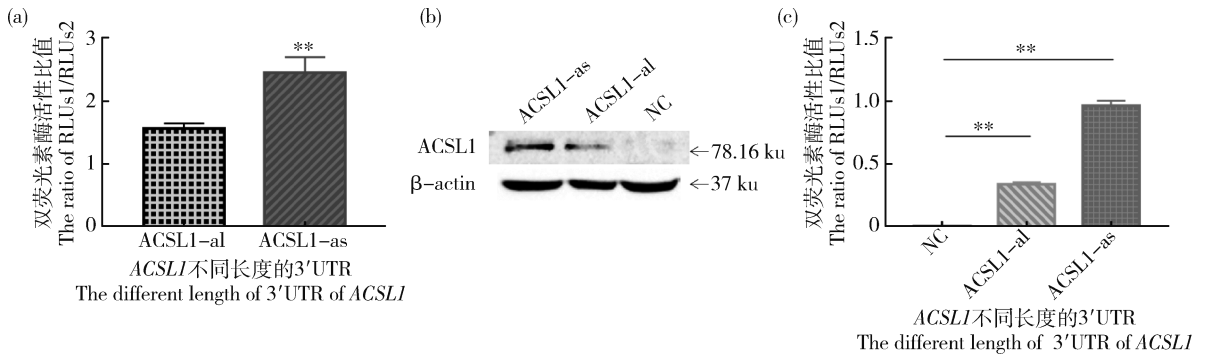
图 2 诱导分化不同时期 *ACSL1* 不同 3'UTR 表达量(a)和 *ACSL1*-al 与 *ACSL1*-as 表达量比值(b)

Fig. 2 The expression of *ACSL1* 3'UTR (a) and the ratio of *ACSL1*-al and *ACSL1*-as (b) at different stages of induced differentiation

2.2 *ACSL1* 不同长度 3'UTR 对基因表达的影响

为确定不同长度的 3'UTR 对 *ACSL1* 蛋白表达的影响,将过表达 *ACSL1*-al 和 *ACSL1*-as 3'UTR 的 pmir-GLO 载体转染至 293T 细胞,24 h 后检测双荧光素酶活性,结果显示与 *ACSL1*-al 3'UTR 相比,*ACSL1*-as 3'UTR 具有更高的荧光素酶活性(图 3(a))。

克隆不同长度 3'UTR 的 *ACSL1* 基因,CDS 区和 3'UTR 总长度分别为 3 670 和 2 848 bp,并连接到 pBI-CMV3 载体中,转染载体至 293T 细胞中,Western blotting 检测细胞内 *ACSL1* 蛋白的表达。结果显示,*ACSL1*-as 蛋白表达量高于 *ACSL1*-al (图 3(b)和(c))。表明因 APA 所产生的短 3'UTR 与长 3'UTR 相比更有助于 *ACSL1* 蛋白的表达。



* 表示差异极显著($P < 0.05$); ** 表示差异极显著($P < 0.01$)。下同。

* indicates significant difference ($P < 0.05$); ** indicates extremely significant difference ($P < 0.01$). The same below.

图 3 *ACSL1* 不同 3'UTR 对萤光素酶活性的影响(a)和 Western blot 检测 APA 对 *ACSL1* 翻译效率的影响(b)及灰度值检测(c)

Fig. 3 Luciferase activity of different *ACSL1* 3'UTRs (a) and the detection of translational efficiency of different *ACSL1* isoforms (b) and gray value detection (c)

2.3 诱导分化不同时期 microRNAs 表达量的检测

通过 Targetscan 预测 *ACSL1* 3'UTR 可能结合的 microRNAs,挑选 5 个 microRNAs 进行验证

(图 4(a))。其中 miR-202、miR-449a 和 miR-124a 在 *ACSL1*-as 3'UTR、*ACSL1*-al 3'UTR 均存在结合位点,miR-218、miR-205 只在 *ACSL1*-al 3'UTR

存在结合位点。检测 microRNAs 在诱导分化过程中表达量的变化,miR-449a 和 miR-124a 的表达量在诱导分化前期(0~4 d)下降,后期(4~8 d)明显

上升,miR-218 和 miR-205 表达量先下降后上升,与 *ACSL1* mRNA 表达趋势相反(图 4(b))。提示这些 microRNAs 可能与 *ACSL1* 表达存在相关性。

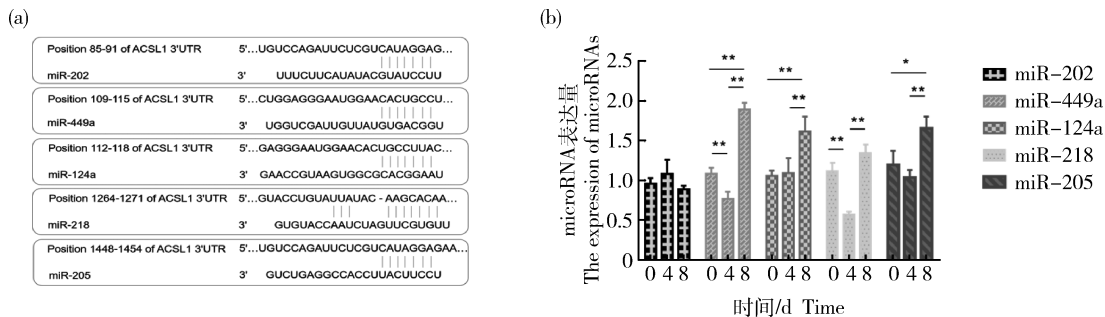


图 4 microRNAs 与 *ACSL1* 3'UTR 预测结合位点(a)和诱导分化不同时期绵羊脂肪细胞内 microRNAs 表达量变化(b)

Fig. 4 Prediction of binding sites between microRNAs and *ACSL1* 3'UTR (a) and MicroRNAs expression in sheep adipocytes at different stages of differentiation (b)

2.4 MicroRNAs 对不同长度 3'UTR 和 *ACSL1* 表达的影响

为确定 microRNAs 对 *ACSL1* 表达的影响,分别将 miR-202 mimics、miR-449a mimics、miR-124a mimics、miR-218 mimics 和 miR-205 mimics 与 *ACSL1*-al 3'UTR pmiR-GLO 载体共转染至 293T 细胞中,检测双荧光素酶活性,结果显示共转染

miR-202、miR-449a、miR-124a 和 miR-218 后细胞内荧光素酶活性均显著降低,其中与 miR-218 共转染后活性降低极显著(图 5(a))。然后将 miR-202 mimics、miR-449a mimics、miR-124a mimics 和 *ACSL1*-as 3'UTR pmiR-GLO 载体共转染至 293T 细胞中,检测双荧光素酶活性结果显示共转染后重组体的荧光素酶活性显著降低(图 5(b))。

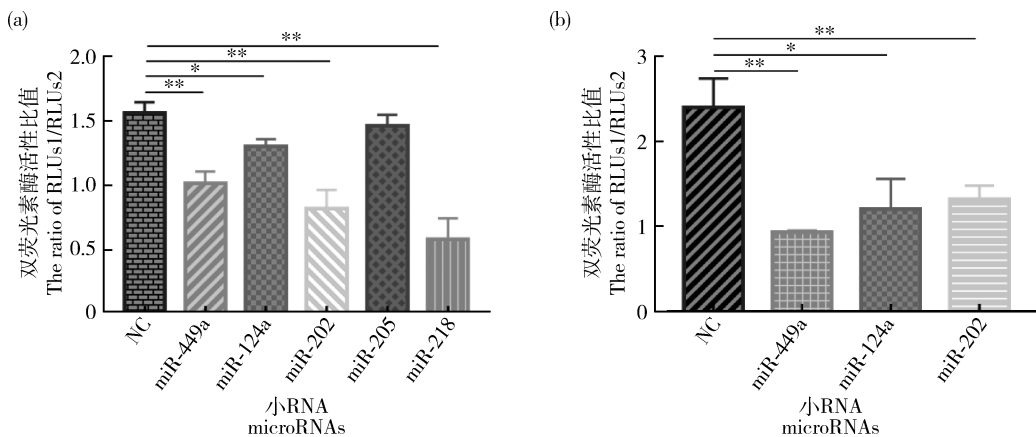


图 5 MicroRNAs 与 *ACSL1*-al(a)、*ACSL1*-as(b) 3'UTR 共转染双荧光素酶活性检测

Fig. 5 Detection of luciferase activity co-transfected with *ACSL1*-al (a), *ACSL1*-as (b) 3'UTR and microRNAs

为了进一步确定 miR-218 是否是通过预测结合位点 1 264~1 271 bp 处与 *ACSL1* 基因 3'UTR 结合,将 *ACSL1*-al 3'UTR 表达载体中预测位点进行定点突变(图 6(a)),然后将突变后的载体与 miR-218 mimics 共转染 293T,突变后荧光素酶活性不再降低(图 6(b)),与转染对照组荧光素酶活性几乎相

同,表明 miR-218 是通过该位点与 *ACSL1* 3'UTR 结合。综上,结果显示,*ACSL1*-as 3'UTR 具有较高的荧光素酶活性,并且更有助于 *ACSL1* 的表达,同时 miR-202、miR-449a、miR-124a 和 miR-218 能够与 *ACSL1* 基因 3'UTR 结合,显著降低细胞内的荧光素酶活性。

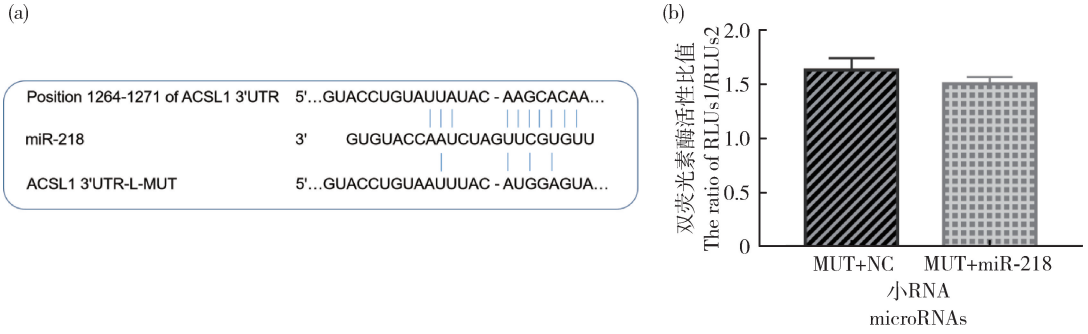


图 6 miR-218 预测结合位点(a)和 *ACSL1*-al 3'UTR MUT 与 miR-218 共转染双荧光素酶活性检测(b)

Fig. 6 miR-218 predicted binding site (a) and detection of luciferase activity co-transfected with miR-218 and *ACSL1*-al 3'UTR MUT (b)

为进一步确定在脂肪组织中 miR-218 对 *ACSL1* 基因表达的影响,将 miR-218 mimics 和 miR-218 inhibitor 分别转染至绵羊前体脂肪细胞中,检测 *ACSL1* mRNA 表达量和蛋白表达量。转染 miR-218 mimics 后绵羊 *ACSL1* mRNA 表达量

显著降低(图 7(a)),蛋白表达量显著降低(图 7(b)和(c))。转染 miR-218 inhibitor 后绵羊 *ACSL1* mRNA 表达量显著升高,蛋白表达量显著升高。结果表明 miR-218 可通过 3'UTR 结合位点调节绵羊前体脂肪细胞中 *ACSL1* 表达量。

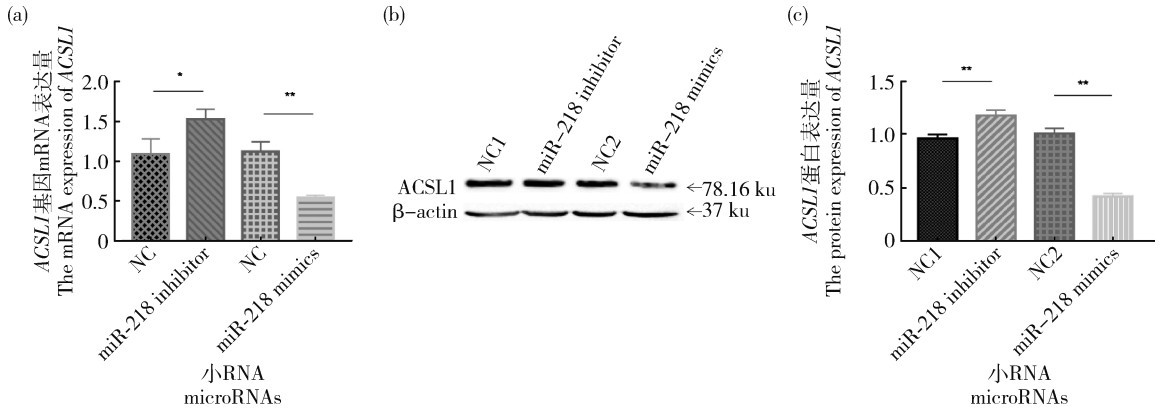


图 7 miR-218 对 *ACSL1* mRNA 表达量的影响(a)和 miR-218 对 *ACSL1* 蛋白表达量的影响(b)及灰度值检测(c)

Fig. 7 miR-218 effects on *ACSL1* mRNA expression (a) and miR-218 effects on protein expression of *ACSL1* (b) and gray value detection (c)

3 讨论

APA 普遍存在于真核生物中,并且能够调控基因表达,*ACSL1* 基因存在 APA 现象,有两个不同长度的 3'UTR,长度分别为 1 570 和 748 bp。检测 *ACSL1* 3'UTR 在诱导分化过程中表达量的变化,2 种长度的 3'UTR 都是先上升后下降,与 *ACSL1* 表达趋势相同,并且 *ACSL1*-al 3'UTR 表达量明显高于 *ACSL1*-as,但是在诱导分化初期,*ACSL1*-as 3'UTR 的表达量上升速度显著高于 *ACSL1*-al,这表明在绵羊前体脂肪细胞分化过程中,可能与 T 细胞被激活一样,部分 *ACSL1* 会切换成近端的 ployA

位点^[17]。研究表明,通过转录组分析脂肪干细胞脂肪生成,结果显示半衰期的变化与 3'UTR 的延长有关,更长的 UTR 稳定了主要的转录本。从而,这些延伸的长度可能与多核糖体结合能力的改变或半衰期有关^[18]。虽然从远端到近端和近端到远端的这类 APA 变化事件和剪接依赖性事件之间没有显著性差异,但有研究显示 T 淋巴细胞活化的过程中 86% 的基因增加了短 3'UTR 亚型的相对表达量,表明这类 3'UTR 缩短与细胞增殖存在重要联系。

在双荧光素酶活性检测中,*ACSL1*-as 3'UTR 高于 *ACSL1*-al,并且连接不同长度 3'UTR 的

ACSL1 蛋白表达检测中发现带有短 3' UTR 的 ACSL1 蛋白表达量更高,说明短 3' UTR 更能促进 ACSL1 基因表达并且在绵羊脂肪细胞诱导分化的初期更活跃。miR-202、miR-449a、miR-124a 和 miR-218 均能显著降低 ACSL1 3' UTR 活性,并且 miR-218 降低极显著。在检测诱导分化不同时 microRNAs 表达量的变化中,miR-218 的表达是先下降后上升,与 ACSL1 表达趋势相符合,并且 miR-218 的过表达可降低绵羊 ACSL1 表达量。前期研究表明,绵羊 ACSL1 基因过表达后脂肪细胞中甘油二酯含量和花生四烯酸含量显著增加^[19],因此 miR-218 可能通过 ACSL1 基因表达影响细胞内甘油二酯和花生四烯酸的含量,值得进一步探究。

ACSL1 的 APA 现象已被证实在生物体中有特殊功能,有研究表明 ACSL1 基因可能通过脂代谢调节结肠直肠癌,ACSL1 基因 3' UTR 多样性可能作为治愈后复发可能性的标志,基因型为 TT 的患者较带有一个 C 的患者更容易复发^[20]。这表明 APA 具有可以作为一种分子标记应用于各个领域的潜能。ACSL1 基因 3' UTR 被证明可与多个 microRNAs 结合。在小鼠的肝星状细胞中 miR-34a 能够与 ACSL1 基因 3' UTR 结合,并靶向 ACSL1 基因影响肝星状细胞激活并引起肝纤维化^[21]。miR-34a 作为哺乳动物脂质代谢的转录调节因子,同样在家禽的肝脏脂代谢中具有调节作用,在产蛋高峰期的母鸡中,miR-34a-5p 在肝脏中的表达明显高于产蛋早期母鸡,能够调节肝细胞内 TAG 和总胆固醇酯的合成^[22]。在甲状腺癌的研究中,SNHG7 在甲状腺癌细胞系中的表达较高,SNHG7 敲低后对 ACSL1 基因有一定的抑制作用,研究发现 SNHG7 通过阻止 miR-449a 与 ACSL1 基因结合来调控 ACSL1 基因表达,进一步调控甲状腺癌细胞的增殖^[23]。因为 ACSL1 基因的 3' UTR 较长,许多 microRNAs 都可能与 ACSL1 基因 3' UTR 结合,影响 ACSL1 基因表达。绵羊 ACSL1 基因有 2 个不同长度的 3' UTR,其中较长的 3' UTR 为 1 570 bp,可能存在很多与 microRNAs 结合的位点,并且有研究表明,带有较长 3' UTR 的基因更稳定和不容易被激活^[24]。因此绵羊带有长 3' UTR 的 ACSL1-al 这一转录本更稳定,在绵羊前体脂肪细胞诱导分化的过程中更难被激活。可以利用 ACSL1 基因这一特性为其相关的脂代谢等疾病提供新的靶标,为绵羊育种提供新的分子标记。

4 结 论

绵羊 ACSL1 基因因 APA 存在 2 个不同长度的 3' UTR,ACSL1-as 在绵羊前体脂肪细胞诱导分化前期更活跃,并且短 3' UTR 更有助于 ACSL1 蛋白表达。miR-218 通过与 ACSL1 3' UTR 的 1 264~1 271 bp 处结合显著降低 ACSL1 基因表达。因此,APA 和 miR-218 可调控绵羊 ACSL1 表达,并可能通过 ACSL1 影响绵羊脂肪代谢。

参考文献 References

- [1] Tian B, Hu J, Zhang H B Lutz C S. A large-scale analysis of mRNA polyadenylation of human and mouse genes[J]. *Nucleic Acids Research*, 2005, 33(1): 201-212
- [2] An J J, Gharami K, Liao G Y, Woo N H, Lau A G, Vanevski F, Torre E R, Jones K R, Feng Y, Lu B, XU B J. Distinct role of long 3' UTR BDNF mRNA in spine morphology and synaptic plasticity in hippocampal neurons[J]. *Cell*, 2008, 134(1): 175-187.
- [3] Ji Z, Lee J Y, Pan Z, Jiang B J, Tian B. Progressive lengthening of 3' untranslated regions of mRNAs by alternative polyadenylation during mouse embryonic development [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United State of America*, 2009, 106(17): 7028-7033
- [4] Flavell S W, Greenberg M E. Signaling mechanisms linking neuronal activity to gene expression and plasticity of the nervous system. *Annual Review of Neuroscience*[J]. *Annual Review of Neuroscience*, 2008, 31: 563-590
- [5] Sandberg R, Neilson J R, Sarma A, Sharp P A, Burge C B. Proliferating cells express mRNAs with shortened 3' untranslated regions and fewer microRNA target sites[J]. *Science*, 2008, 320(5883): 1643-1647
- [6] Mayr C, Bartel D P. Widespread shortening of 3' UTRs by alternative cleavage and polyadenylation activates oncogenes in cancer cells[J]. *Cell*, 2009, 138(4): 673-684
- [7] Shirasaki T, Honda M, Shimakami T, Horii R, Yamashita T, Sakai Y, Sakai A, Okada H, Watanabe R, Yi M, Lemon S M, Kaneko S. MicroRNA-27a regulates lipid metabolism and inhibits hepatitis C virus replication in human hepatoma cells[J]. *Journal of Virology*, 87(9): 5270-5286
- [8] Koufaris C, Valbuena G N, Pomyen Y, Tredwell G D, Nevedomskaya E, Lau C H, Yang T, Benito A, Ellis J K, Keun H C. Systematic integration of molecular profiles identifies miR-22 as a regulator of lipid and folate metabolism in breast cancer cells[J]. *Oncogene*, 2016, 35(21): 2766-2776
- [9] Nakanishi N, Nakagawa Y, Tokushige N, Aoki N, Matsuzaka T, Ishii K, Yahagi N, Kobayashi K, Yatoh S, Takahashi A, Suzuki H, Urayama O, Yamada N, Shimano

- H. The up-regulation of microRNA-335 is associated with lipid metabolism in liver and white adipose tissue of genetically obese mice [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2009 385(4): 492-496
- [10] Wu L, Feng Y, Qian M. Research on GPs inhibition of miRNA-122 expression and lipid-lowering effect via regulation of lipid metabolism enzyme activity [J]. *Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica-World Science and Technology*, 2015
- [11] Chen T, Yan H, Li Z B, Jing T, Zhu W G, Ge J H, Zheng X Y, Pan X P, Yan H, Zhu J H. MicroRNA-155 regulates lipid uptake, adhesion/chemokine marker secretion and SCG2 expression in oxLDL-stimulated dendritic cells/macrophages [J]. *International Journal of Cardiology*, 2011, 147(3): 446-447
- [12] Ellis J M, Li L O, Wu P C, Koves T R, Ilkayeva O, Stevens R D, Watkins S M, Muoio D M, Coleman R A. Adipose acyl-CoA synthetase-1 directs fatty acids toward β -oxidation and is required for cold thermogenesis[J]. *Cell Metabolism*, 2010, 12(1): 53-64
- [13] Suzuki H, Watanabe M, Fujino T, & Yamamoto T. Multiple promoters in rat acyl-CoA synthetase gene mediate differential expression of multiple transcripts with 5'-end heterogeneity [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1995, 270(16): 9676-9682
- [14] Cui M, Wang Y, Sun B D, Xiao Z L, Ye L H, Zhang X D. MiR-205 modulates abnormal lipid metabolism of hepatoma cells via targeting acyl-CoA synthetase long-chain family member 1 (ACSL1) mRNA[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2014, 444(2): 270-275
- [15] Lian S, Guo J R, Nan X M, Ma L, Loo J J, Bu D P. MicroRNA Bta-miR-181a regulates the biosynthesis of bovine milk fat by targeting ACSL1[J]. *Journal of Dairy Science*, 2016, 99(5): 3916-3924
- [16] Huang H Y, Liu R R, Zhao G P, Li Q H, Zheng M Q, Zhang J J, Li S F, Liang Z, Wen J. Integrated analysis of microRNA and mRNA expression profiles in abdominal adipose tissues in chickens[J]. *Scientific Reports*, 2015, 5: 16132
- [17] Sandberg R, Neilson J R, Sarma A, Sharp, P A, Burge, C B. Proliferating cells express mRNAs with shortened 3' untranslated regions and fewer MicroRNA target sites[J]. *Science*, 2008, 320(5883): 1643-1647
- [18] Spangenberg L, Shigunov P, Abud A P R, Cofré A R, Stimamiglio M A, Kuligovski C, Zych J, Schittini A V, Costa A D T, Rebelatto C K, Brofman P R S, Goldenberg S, Correa A, Naya H, Dallagiovanna B. Polysome profiling shows extensive posttranscriptional regulation during human adipocyte stem cell differentiation into adipocytes [J]. *Stem Cell Research*, 2013, 11(2): 902-912
- [19] Cao Y, Wang S T, Liu S Q, Wang Y L, Jin H G, Ma H H, Luo X T, Cao Y, Lian Z X. Effects of long-chain fatty acyl-CoA synthetase 1 on diglyceride synthesis and arachidonic acid metabolism in sheep adipocytes[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(6): 2044
- [20] Vargas T, Moreno-Rubio J, Herranz J, Cejas P, Molina S, Mendiola M, Burgos E, Custodio AB, De Miguel M, Martín-Hernández R, Reglero G, Feliu J, Ramírez de Molina A. 3' UTR polymorphism in ACSL1 gene correlates with expression levels and poor clinical outcome in colon cancer patients[J]. *PLoS One*, 2016, 11(12): e0168423
- [21] Yan G, Li B, Xin X, Xu M, Yu H. MicroRNA-34a promotes hepatic stellate cell activation via targeting ACSL1[J]. *Medical Science Monitor*, 2015, 21: 3008-3015
- [22] Tian W H, Wang Z, Yue Y X, Li H, Li Z J, Han R L, Tian Y D, Kang X T, Liu X J. miR-34a-5p increases hepatic triglycerides and total cholesterol levels by regulating ACSL1 protein expression in laying hens[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(18): 4420
- [23] Guo L C, Lu J X, Gao J, Li M Y, Wang H H, Zhan X R. The function of SNHG7/miR-449a/ACSL1 axis in thyroid cancer[J]. *Journal of Cellular Biochemistry*, 2020, 121(10): 4034-4042
- [24] Mayr C, Bartel D P. Widespread shortening of 3' UTRs by alternative cleavage and polyadenylation activates oncogenes in cancer cells[J]. *Cell*, 2009, 138(4): 673-684