

# 过表达 GATA2 对鸡前脂肪细胞转录表达的调控作用及机制

王英军<sup>1,2</sup>, 张婷婷<sup>1,2</sup>, 王小沛<sup>3</sup>, 周心北<sup>1,2</sup>, 陈月婵<sup>3</sup>, 张志威<sup>1,2</sup>

**摘要** 目的 阐明过表达 GATA2 对鸡前脂肪细胞转录表达的影响。方法 培养鸡前脂肪细胞 ICP1, 转染 pCMV-myc-GATA2 或 pCMV-myc 质粒, Western blot 验证细胞中 GATA2 过表达情况, RNA-seq 研究过表达 GATA2 对细胞转录组表达变化, ChIP-seq 研究 GATA2 在基因组的结合情况, Real-time PCR 验证部分差异表达基因, ChIP-PCR 验证 GATA2 对 TAF3 基因的集合情况。结果 转染 pCMV-myc-GATA2 可以在 ICP1 细胞过表达 GATA2 蛋白, 过表达 GATA2 后, ICP1 细胞中 942 个基因表达上调, 840 个基因表达下调 ( $P < 0.05$ )。富集分析显示差异表达基因与核糖体和线粒体的结构和功能相关 ( $P < 0.01$ ); GESA 分析显示, 过表达 GATA2 的 ICP1 细胞中 RNA 聚合酶 II 转录起始复合物、核糖体生物生成、丙酸代谢和氧化磷酸化相关基因集表达上调; 组蛋白赖氨酸 N 甲基转移酶、核转录抑制复合体形成、脂肪因子和钙离子等信号通路相关基因集表达下调。ICP1 细胞中 ChIP-seq 鉴定出 2 833 个 GATA2 结合的基因组峰, 涉及 2 018 个基因。Motif 分析显示 GATA2 结合 (T/A) GATA 模式; 富集分析显示这些基因参与胚胎发育、信号传导、细胞代谢和细胞间相互作用。差异表达基因和 GATA2 结合基因取交集获得 105 个基因, 富集分析显示这些基因与转录、转录后调控、细胞间相互作用、信号传导和细胞周期相关 ( $P < 0.001$ )。结论 GATA2 可以与鸡前脂肪细胞的基因组结合调节其转录组表达模式。

**关键词** 鸡; 前脂肪细胞; GATA2; RNA-seq; ChIP-seq; 富集分析; GESA 分析

中图分类号 Q 75; R 3

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2024)07-1157-09  
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.07.008

GATA 结合蛋白 (GATA binding proteins, GATAs) 是一类具有 2 个保守的 Cys-X2-Cys-X17-Cys-

X2-Cys (Cys 为半胱氨酸, X 为任意氨基酸) 锌指结构的转录因子, 因能特异性结合 A/T (GATA) A/G 序列而得名<sup>[1]</sup>。GATA2 是 GATAs 家族成员之一, 在造血和内分泌细胞谱系发育过程中发挥重要作用, GATA2 突变会导致一种以多种临床表现为特征的人类常染色体相关遗传疾病——GATA2 缺乏综合征 (GATA2 deficiency syndrome, G2DS)<sup>[2]</sup>。

脂肪细胞形成是脂肪前体细胞转化为成熟脂肪细胞的过程, 与肥胖、2 型糖尿病和多种肿瘤的发生密切相关<sup>[3]</sup>。鸡是重要的农业和代谢疾病模式动物<sup>[4]</sup>, 仅有白色脂肪组织无棕色脂肪组织, 研究 GATA2 在鸡脂肪细胞形成的功能既是低脂肉鸡遗传育种的需要, 也是揭示人类多种疾病的发病机制的途径之一。目前鸡 GATA2 在脂肪细胞中的生物学作用尚未完全清楚, 课题组前期研究<sup>[5]</sup>发现通过过表达 GATA2 可抑制鸡 PPAR $\gamma$  转录, 提示了 GATA2 调控鸡脂肪细胞形成。为进一步揭示 GATA2 在鸡脂肪细胞形成的作用, 该研究利用 RNA-seq 和 ChIP-seq 探索过表达 GATA2 对鸡前脂肪细胞转录模式的影响和作用机制, 为进一步阐明 GATA2 的生物学功能提供参考。

## 1 材料与方法

**1.1 细胞培养与转染** 永生鸡前脂肪细胞系 ICP1 购自中国典型培养物保藏中心, 培养于添加 10% 胎牛血清的 DMEM/F12 培养基 (美国 Invitrogen 公司) 中, 培养条件为 37 °C 和 5% CO<sub>2</sub>, 详见参考文献<sup>[6]</sup>。采用 ExFect 转染试剂 (南京诺唯赞生物科技有限公司), 参考高琴等<sup>[7]</sup>报道的方法完成转染, 转染用的质粒 pCMV-myc 购自美国 Clontech 公司, pCMV-myc-GATA2 为课题组构建<sup>[5]</sup>。

**1.2 RNA 提取与反转录** 转染 48 h 后用 TRIzol 试剂 (上海索莱宝生物科技有限公司) 提取总 RNA。反转录按照 HiScriptR III 1st Strand cDNA Synthesis Kit (南京诺唯赞生物科技有限公司) 试剂盒操作说明完成。

**1.3 Real-time PCR** Real-time PCR 采用 ChamQ Universal SYBR qPCR Master Mix 试剂盒 (南京诺唯

2024-01-30 接收

基金项目: 国家自然科学基金 (编号: 32360825、31960647、31501947); 石河子大学青年创新拔尖人才项目 (编号: CXBJ201905)

作者单位: <sup>1</sup>石河子大学组织胚胎学教研室, 石河子 832000

<sup>2</sup>石河子大学医学院新疆地方与民族高发病教育部重点实验室, 石河子 832000

<sup>3</sup>石河子大学第一附属医院生殖医学科, 石河子 832000

作者简介: 王英军, 女, 硕士研究生;

张志威, 男, 教授, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: zzwneu@163.com

赞生物科技有限公司) 操作说明完成,引物由上海生物工程股份有限公司合成(表1),采用 20  $\mu$ l 反应体系: 2  $\times$  ChamQ Universal SYBR Qpcr Master Mix 10  $\mu$ l、Primer F/R 各 0.4  $\mu$ l、ddH<sub>2</sub>O 8.2  $\mu$ l、以 1  $\mu$ l cDNA 为模板。反应程序为: 95  $^{\circ}$ C 预变性 30 s; 95  $^{\circ}$ C 10 s; 60  $^{\circ}$ C 30 s; 40 个循环。所有实验具有 3 个生物样本重复,所有反应进行 3 次技术重复,表达数据以鸡 GAPDH 和  $\beta$ -actin( ACTB) 为内参,使用  $2^{-\Delta\Delta C_T}$ 法表示。

表1 Real-time PCR 引物序列表

基因	引物序列(5'-3')
RRP15	F: GGAGGGTGCTAAAGGAAACC R: TTGCCCTCTCCATCACTTTC
ACTR3	F: GAAGACTGGGACCTGATGGA R: GATGCAGCTAAGGCAAGGAC
CWC15	F: GCAGCTCTTCTGGCTGAACT R: TCCCACTCAGGATGTTCTCC
MSX1	F: ACCCTGGGATCTGTTCTGTG R: AATGCCACAGGTTAACAGC
CRELD2	F: CTGCTCTCCAGGAACCTACG R: CCTGACTGTGCAGATGCTGT
ARID1B	F: CAGCAGGACATGCTCAGGA R: TGTGCTTCAGTCCAGTCC
OLFM1	F: TCTACAGCTCTGCCAGGAT R: TGGCTTTCTTCCACTTGCTT
PCMT1	F: AAAAGACGATCCCACATTGC R: ATAAGTGCTTGGGGCACAAC
GATA6	F: CGAAGGCATGCTCTGGTAAC R: ACAGCCCATCTTGACCTGAA

**1.4 Western blot 法测定蛋白含量** 转染 48 h 后,弃去培养基,加入 RIPA 裂解液(上海碧云天生物技术有限公司)冰上裂解细胞 30 min, 4  $^{\circ}$ C、10 000 r/min 离心 10 min。取上清液,加入 5  $\times$  上样缓冲液,100  $^{\circ}$ C 蛋白质变性 10 min。用 BIO-RAD 的 Mini-PROTEAN3 系统进行电泳,用 Mini Trans-Blot 转膜 1 h。在含有 5% 脱脂乳的 TBST(含 0.05% 吐温的 TBS) 中室温封闭膜 2 h,含  $\beta$ -actin 单抗(批号: TA-09,北京中杉金桥生物技术有限公司,1:1 000) 或 c-myc 标签单抗(批号: 2106036A,日本 TaKaRa 公司,1:1 000) 的 TBST 中 4  $^{\circ}$ C 孵育过夜。之后,在羊抗小鼠二抗(批号: ZB-2305,北京中杉金桥生物技术有限公司,1:10 000) 的 TBST 溶液中室温孵育 1.5 h,用 ECL 试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司)显色。

**1.5 RNA-Seq 与 ChIP-seq 测序分析** 转染 48 h 后,将 TRIzol(美国 Ambion 公司)处理后和终浓度 1% 的甲醛(美国 Cell Signaling Technology 公司)固

定后的鸡前脂肪细胞样本送至北京诺和致源生物科技有限公司分别进行 RNA-seq 和 ChIP-seq 测序分析。

**1.6 ChIP-PCR 检测** 用 SimpleChIP<sup>®</sup> Plus Enzymatic Chromatin IP Kit 试剂盒(美国 CST 公司)按照说明书操作获得 ChIP 产物 DNA,以产物 DNA 为模板,按表 2 所示引物进行 Real-time PCR,以 2% Input 样品为内参,采用  $2^{-\Delta\Delta C_T}$ 法表示 DNA 相对富集倍数。

表2 ChIP-PCR 引物序列表

引物名称	引物序列(5'-3')
Chip-TAF3-1	F: CCTGGAGTTCAGGAGCTGTG R: GCTTGGAGCAGGGATAGTTTC
Chip-TAF3-2	F: ATTCTGAAGTTGCCGAGGA R: GTTCGGTGCCTTCTTGGAAAC

**1.7 统计学处理** RNA-seq 基因表达数据两组间表达差异分析采用负二项分布检验,Real-time PCR 数据两组间差异分析符合正态分布采用不配对单尾 *t* 检验,不符合正态分布采用单尾 Wilcoxon 秩和检验,CHIP-PCR 数据分析采用 R 4.04 软件。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 过表达 GATA2 对鸡前脂肪细胞转录表达的影响** Western blot 分析显示,转染 48 h 后与转染 pCMV-myc 空载体(empty vector, EV, 即 EV 组)的鸡前脂肪细胞比较,转染 pCMV-myc-GATA2(GATA2 过表达组)的细胞在 GATA2 蛋白预测大小附近的 45 ~ 55 ku 检测出了明显的 myc 标签蛋白,表明转染 pCMV-myc-GATA2 可以在鸡前脂肪细胞中表达 GATA2 蛋白质(图 1A)。提取总 RNA 进行 RNA-seq(图 1B、C) 测序,获得 17 898 个基因的有效表达数据,负二项分布检验显示,与 EV 组比较,过表达 GATA2 的鸡前脂肪细胞中 942 个基因表达上调,840 个基因表达下调( $P < 0.05$ , 图 1D、E)。

**2.2 Real-time PCR 验证差异表达基因** 以 GAPDH 和 ACTB 为内参利用 Real-time PCR 对 RRP15、ACTR3、CWC15、MSX1、CRELD2、ARID1B、OLFM1、PCMT1 和 GATA6 在两组间的表达水平进行验证,结果显示,这 9 个候选基因在 GATA2 过表达组和 EV 组间的表达趋势与 RNA-seq 一致(图 1E 和图 2)。其中,ARID1B、CRELD2、PCMT1、OLFM1 和 GATA6 的表达水平无论采用 GAPDH 还是 ACTB 为

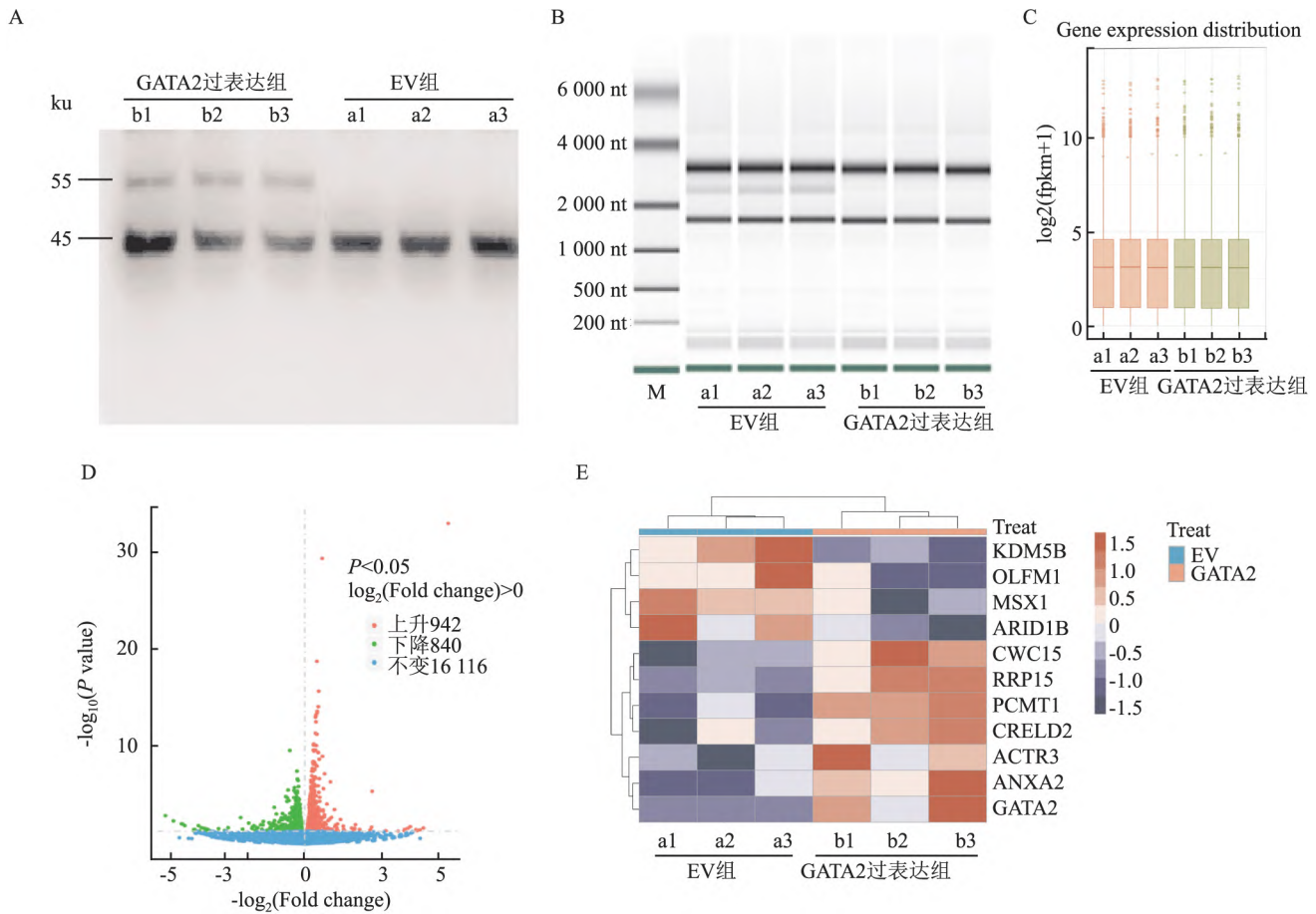


图1 GATA2 过表达对鸡前脂肪细胞转录组表达情况

A: 分别用 pCMV-myc-GATA2 和 pCMV-myc-EV 转染鸡前脂肪细胞 48 h 的 Western blot 分析; B: 用于 RNA-seq 的 RNA 的电泳分析; C: RNA-seq 结果中基因表达数据的分布; D: GATA2 过表达组和 EV 组之间的差异表达基因; E: 11 个差异表达基因的热图; a1: EV-1; a2: EV-2; a3: EV-3; b1: GATA2-1; b2: GATA2-2; b3: GATA2-3; M: marker

内参两组间均差异有统计学意义(均  $P < 0.05$ ), RRP15 采用 GAPDH 为内参的表达数据在两组间差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。ACTR3、CMC15 和 MSX1 采用 GAPDH 或 ACTB 为内参的表达数据两组间差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

**2.3 RNA-seq 结果功能富集分析** 对 RNA-seq 差异表达基因(differentially expressed genes, DEGs) 进行功能富集, 结果显示, DEGs 最显著富集的 GO 细胞组分( cellular component, CC) 是核糖体和线粒体, GO 生物过程( biological process, BP) 与核糖体生成和蛋白质翻译相关, GO 分子功能( molecular function, MF) 与核糖体结构和电子传递链相关( $P < 0.05$ , 图 3A); DEGs 显著富集的 KEGG 通路是核糖体和氧化磷酸化( $P < 0.05$ , 图 3B)。

基因集富集分析显示(图 4), 过表达 GATA2 后, RNA 聚合酶 II 转录起始复合物、蛋白质定位染

色体结构和核糖体大小亚基的生物生成等 GO 条目相关基因表达上调; 蛋白质定位于内吞体、软骨形成、组蛋白赖氨酸 N 甲基转移酶和核转录抑制复合体的形成等的 GO 条目相关基因表达下调; 缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸的代谢、DNA 复制、氧化磷酸化和丙酸代谢等的 KEGG 通路相关基因表达上调; mTOR 信号通路、Notch 信号通路、脂肪因子和钙离子信号通路等相关基因表达下调。

**2.4 GATA2 基因作用位点** 将过表达 GATA2 转染至鸡前脂肪细胞 48 h 后进行 ChIP-seq 测序分析。结果显示, 在鸡前脂肪细胞中 GATA2 主要富集于基因转录起始位点( transcriptional start site, TSS) 附近(图 5A、B)。在鸡基因组共找到 2 833 个的 GATA2 结合峰, 涉及 2 018 个基因。Motif 分析显示, 鸡 GATA2 结合的 DNA Motif 含有报道过的保守 GATA 位点(图 5C)。

GATA2 靶基因显著富集的 GO 条目为: 间充质细胞增殖、模式特异过程、上皮形态发生、肾脏间充质发育、细胞间信号传导、组织成形、消化系统发育和细胞命运决定 ( $P < 0.05$  图 5D)。GATA2 靶基因

最显著富集的 KEGG 通路为: 心肌细胞肾上腺素能信号传导、钙信号通路、细胞黏附分子、柠檬酸循环、黏着斑、FoxO 信号通路、间隙连接、糖胺聚糖硫酸乙酰肝素/肝素生物合成、Hedgehog 信号通路、MAPK

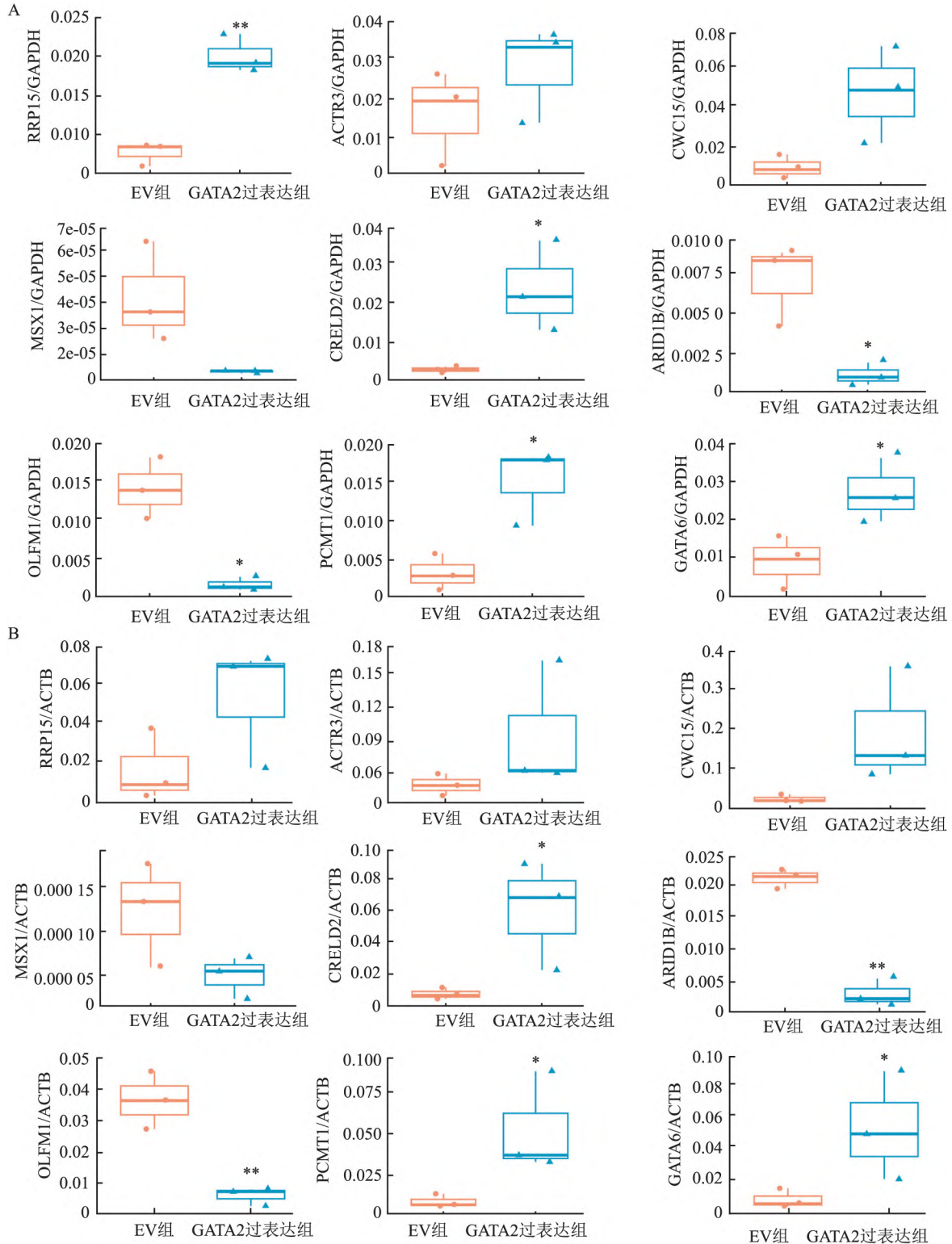


图2 Real-time PCR 分析候选基因的表达

A: GAPDH 作为研究候选基因表达的内参; B: ACTB 作为研究候选基因表达的内参; 与 EV 组比较: \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$

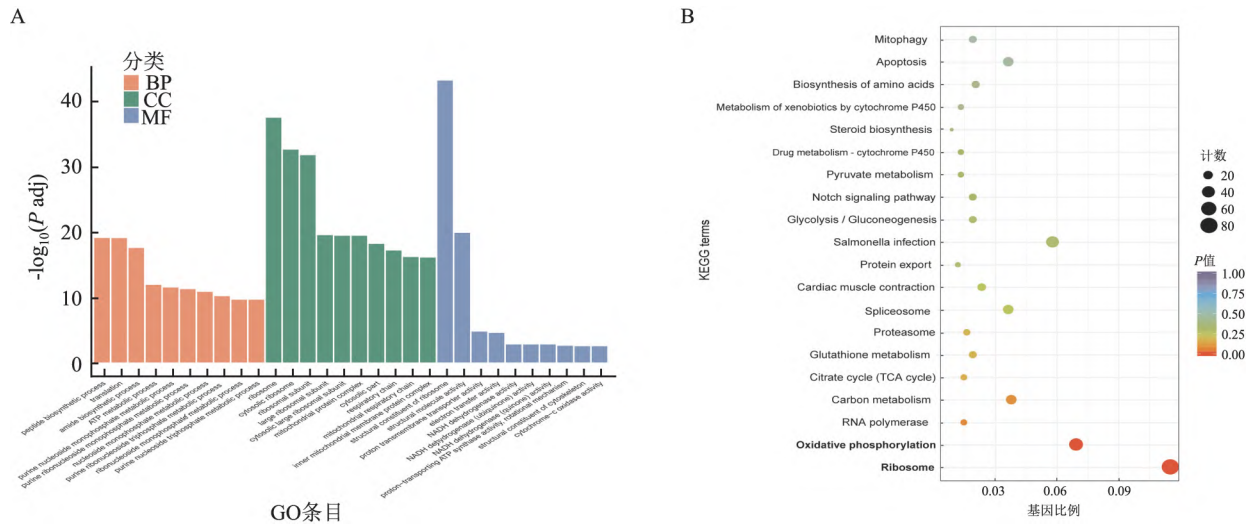


图3 基因功能富集分析

A: CC、BP 和 MF 的前 10 个 GO 项目; B: KEGG 通路的前 20 个富集项目

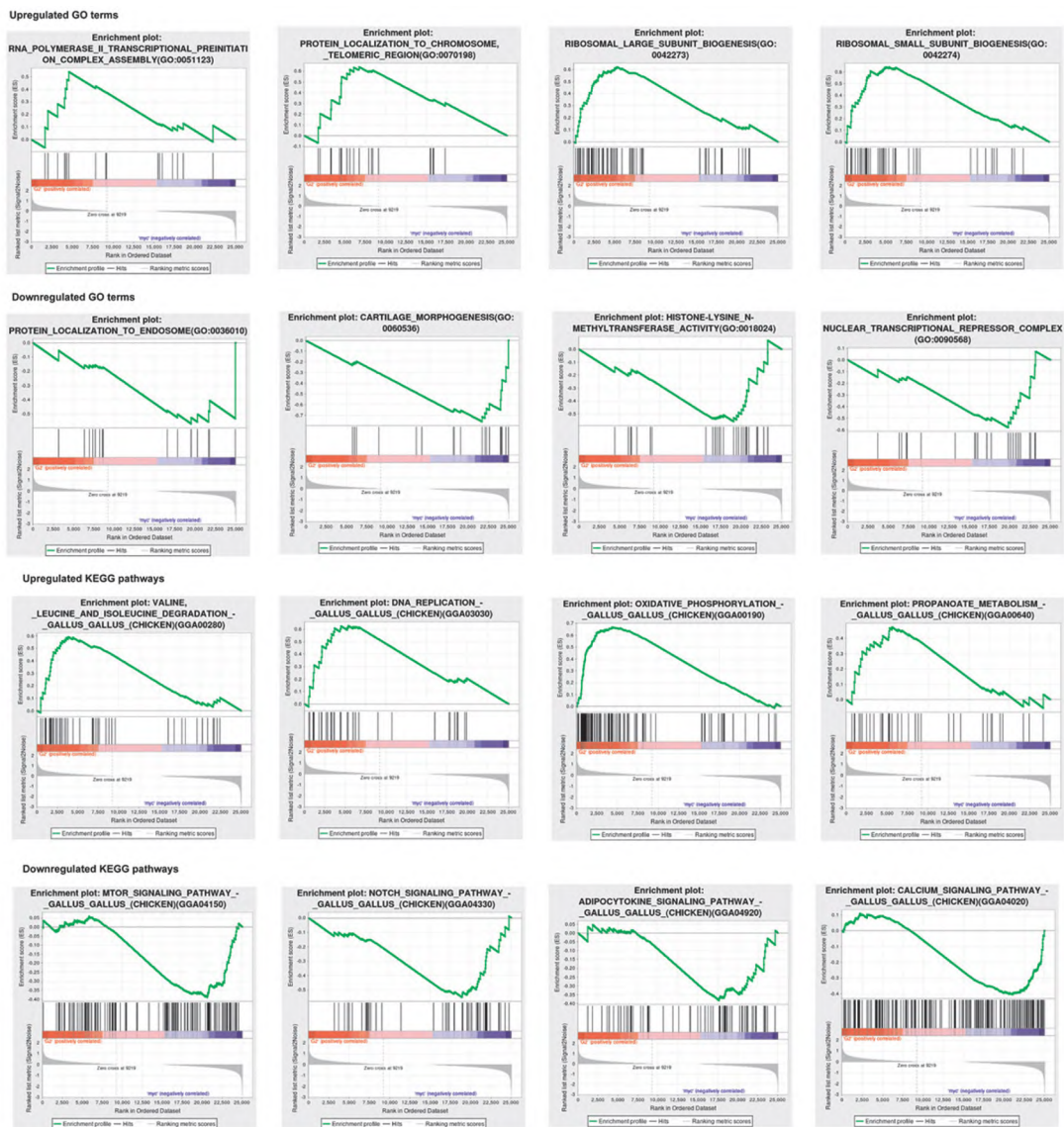


图4 RNA-seq 结果的部分基因集富集分析

信号通路、黑色素生成、粘蛋白型 O - 甘氨酸生物合成、神经活性配体 - 受体相互作用、孕酮介导的卵母细胞成熟、丙酸代谢、肌动蛋白细胞骨架的调节、视黄醇代谢、转化生长因子-β 信号通路、血管平滑肌收缩和 Wnt 信号通路(图 5E)。利用 myc 标签抗体对过表达 GATA2 进行 Western blot 分析显示:在预测 GATA2 蛋白附近,可以检测到 myc 标签抗体蛋白表明鸡前脂肪细胞中转染 GATA2 后能够表达 GATA2 融合蛋白(图 5F)。

**2.5 ChIP-PCR 验证 GATA2 结合 TAF3 基因序列** ChIP-seq 结果显示,与 Input 比较,GATA2 在 TAF3 基因区域有 2 个明显的结合峰,即 TAF3-1 和 TAF3-2,均位于 TAF3 第 2 内含子(图 6A)。ChIP-PCR 结果显示,与使用无关抗体 IgG 免疫沉淀的对照组比较,Myc 抗体免疫沉淀样本 TAF3-1 区 DNA 浓度显著升高( $P < 0.05$ ,图 6B)。

**2.6 RNA-seq 和 ChIP-seq 的合并分析** 将 RNA-seq 的 1 782 个差异表达基因和 ChIP-seq 的 2 018 个靶基因取交集获得 105 个基因(图 7A)。其上调

基因分别是 GATA2、RPS24、ATP5MC3、CDH13、HNRNPA3、ANXA2、GJA1、UBE2L3、LLPH、VNN1、COX14、BASP1、DGKB、PCMT1、RPS10、UFM1、GPX4、CCNB2、RSU1、CWC15、LSM6、C5H15orf41、GBE1、SPON1、ERG28、EDNRA、RAD51B、KLF6、ATP5MC2、BACE2、KCNJ12、TFPI、CRCP、CRYM、FHIT、CYP51A1、IFT57、CHID1、TMA16、ACTR3、SRA1、SULT1E1、COL3A1、CRELD2、H2AFY、RRP15、POLR1A、TPK1、HDAC2、C1D、CENPV、FAM198B、NT5DC2、PFKP、CRYL1、CLCN4; 下调基因分别是 CELSR1、KIRREL3、FZD1、RALGAPB、HSPH1、WNK2、WWC1、ETV3、CRIM1、TRIB1、KDM5B、TECTA、KBP、HELZ2、ARRDC4、BACH2、SEPTIN9、TSC22D1、CAMK1D、RELL2、SMARCD2、SLC45A4、LRP12、GTF3C4、FAM46A、MYO18B、TRIL、ARID1B、ZNF804A、PARD3B、RAB43、PRPF40A、PRKX、DICER1、PRTG、TAF3、GRM1、WAC、MSX1、OLFM1、TRPC7、FBRSL1、HIVEP2、HS6ST2、ZBTB10、AGRN、DENND3。这些基因显著

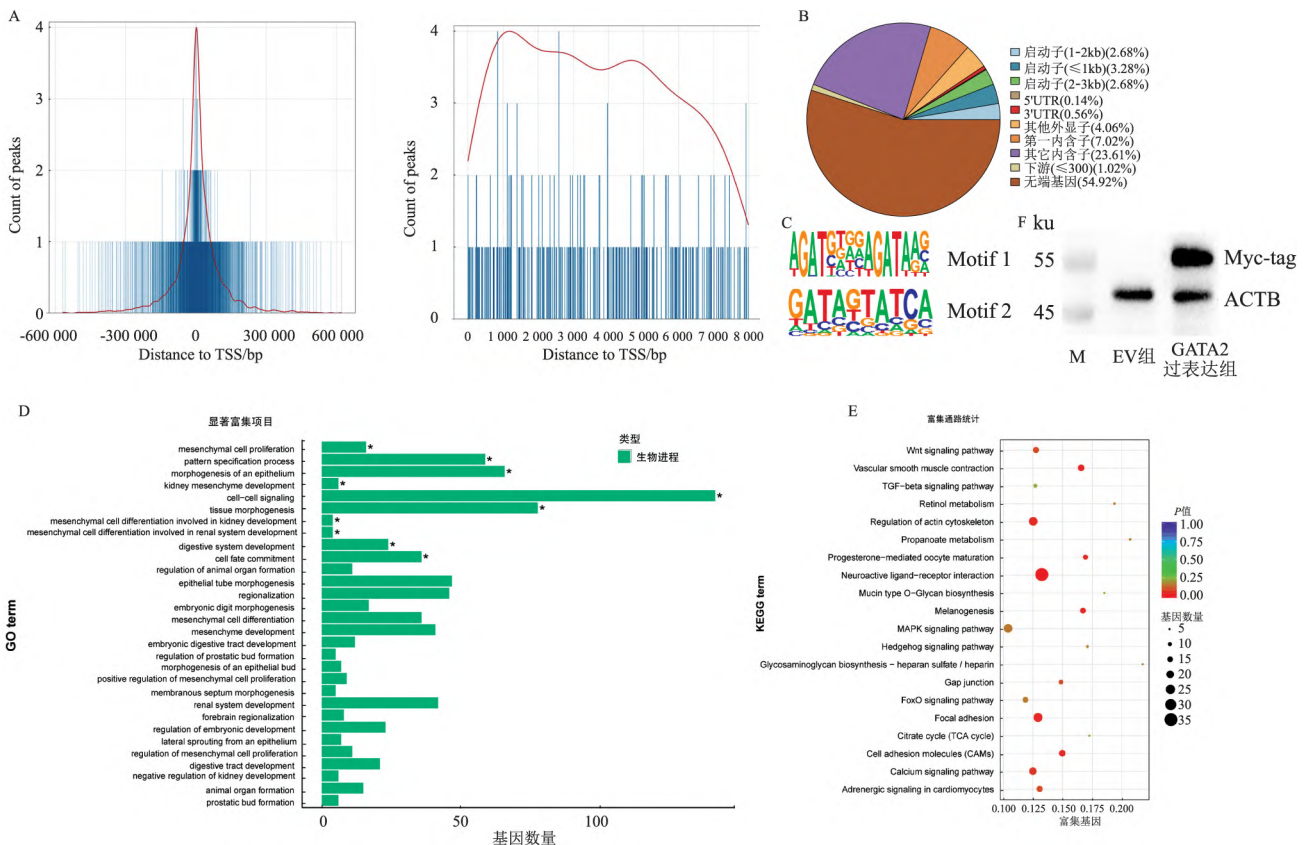


图 5 鸡 GATA2 与前脂肪细胞 DNA 序列结合的 ChIP-seq 分析

A、B: GATA2 与鸡前脂肪细胞 DNA 序列结合的位置; C: 鸡 GATA2 保守结合位点的基元; D: GO 分析中富集的前 30 个术语, \*  $P < 0.05$ ; E: KEGG 分析中富集的前 20 个通路; F: 分别用 pCMV-myc-GATA2 和 pCMV-myc-EV 转染鸡前脂肪细胞 48 h 的 Western blot 分析

富集在 5.8 S rRNA 成熟、转录因子活性的负调控、谷氨酸受体活性、细胞基质黏附的正调控和 mRNA 顺式剪接等 GO 条目 ( $P < 0.05$  图 7B); 以及细胞连

接、细胞间通讯、细胞-细胞外基质相互作用等通路 ( $P < 0.05$  图 7C)。

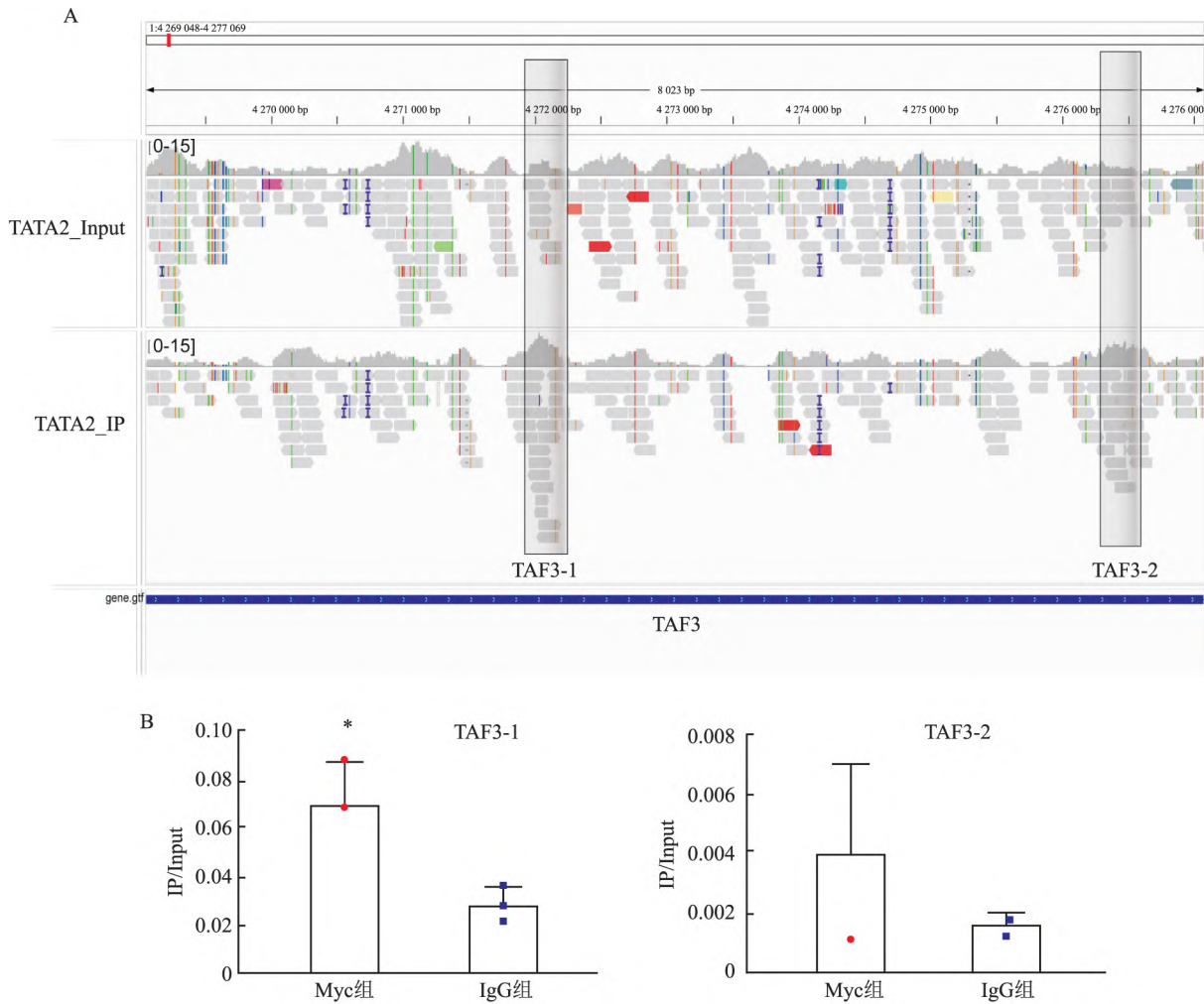


图 6 GATA2 与鸡前脂肪细胞中的 TAF3 区域结合

A: ChIP-seq 分析显示 TAF3 基因区有 2 个 GATA2 结合峰; B: GATA2 与 TAF3 基因区结合的 ChIP-PCR 分析; 与 IgG 组比较: \*  $P < 0.05$

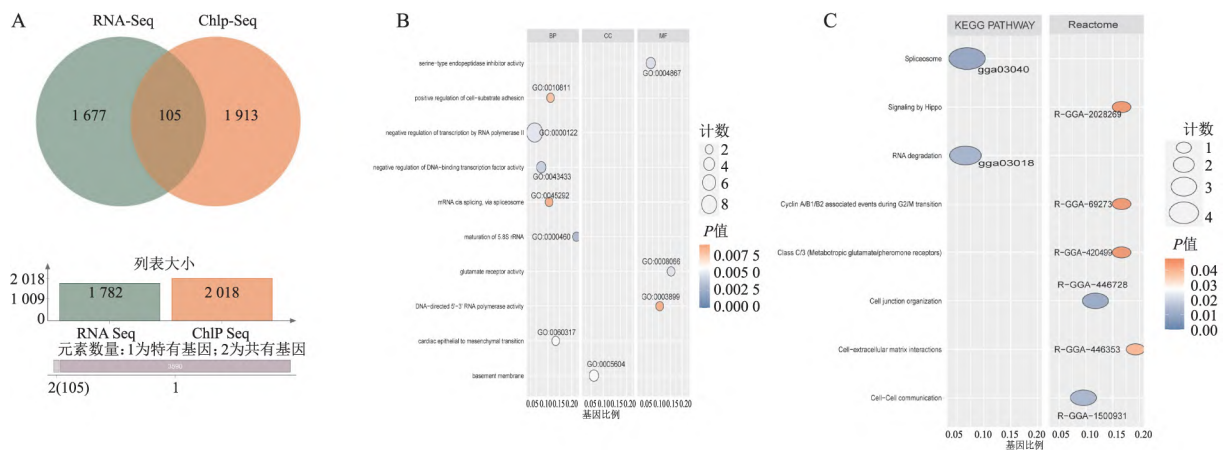


图 7 RNA-seq 与 ChIP-seq 的合并分析

A: 差异表达基因( RNA-seq) 和靶基因( ChIP-seq) 的交叉点; B: 前 10 个富集的 GO 术语; C: 明显富集的通路

### 3 讨论

GATA2 的生物学功能和作用机制目前尚未完全清楚。本研究利用 RNA-seq 研究了过表达 GATA2 对鸡前脂肪细胞基因转录的影响,结果显示,DEGs 最显著富集到了与核糖体和线粒体的结构和功能相关的 GO 和 KEGG 条目。核糖体生物发生与细胞生长和增殖具有直接联系<sup>[8]</sup>,此外,在脂肪细胞形成过程中,核糖体生物发生相关基因表达下调<sup>[9]</sup>,线粒体氧化磷酸化是激素诱导的脂肪细胞生成所必需的<sup>[10]</sup>。过表达 GATA2 的鸡前脂肪细胞中核糖体大小亚基的生物生成和氧化磷酸化通路表达上调,提示 GATA2 调控鸡前脂肪细胞的增殖和分化。

前列腺癌的研究<sup>[11]</sup>显示,GATA2 是一种染色质去致密化先驱转录因子。过表达鸡 GATA2 后,前脂肪细胞中 RNA 聚合酶 II 转录起始复合物和蛋白质定位于染色体结构基因集表达上调;组蛋白赖氨酸 N 甲基转移酶和核转录抑制复合体的形成基因集表达下调,提示鸡 GATA2 可能有助于降低染色质致密度和启动基因转录。

支链氨基酸代谢和丙酸代谢影响脂肪细胞形成<sup>[12-13]</sup>。过表达 GATA2 的鸡前脂肪细胞中缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸的代谢和丙酸代谢基因集表达上调,提示了 GATA2 可能作用于支链氨基酸和丙酸代谢影响鸡前脂肪细胞的形成。mTOR、Notch 和钙离子信号通路活化促进脂肪细胞分化<sup>[14-16]</sup>。过表达 GATA2 后 mTOR、Notch、脂肪因子和钙离子信号通路基因集表达下调,提示了 GATA2 可能抑制鸡脂肪细胞形成。

ChIP-seq 结果显示,鸡 GATA2 可以结合前脂肪细胞基因组,结合位点含有保守的(A/T)GATA(A/T)序列,与之前报道一致<sup>[17]</sup>。GO 富集分析显示 GATA2 结合的基因涉及肾脏和消化系统的发育,这和 GATA2 与肾脏疾病相关的研究报道一致<sup>[18]</sup>。此外,KEGG 分析显示 GATA2 结合基因涉及细胞内信号传导和代谢调控等生物学功能,并且部分信号通路和代谢过程与 RNA-seq 富集分析结果一致,提示了 GATA2 可以通过作用于细胞内信号通路和代谢过程影响鸡脂肪细胞形成或功能。

RNA-seq 和 ChIP-seq 联合分析获得了 105 个鸡前脂肪细胞中 GATA2 的下游靶基因,这些基因与转录、转录后调控和核糖体生成相关,提示了 GATA2 不仅是转录因子,可能还在多个水平转录调控基因

表达。此外,这些基因涉及丝氨酸型内肽酶抑制剂活性、谷氨酸受体活性、基底膜以及细胞通讯和细胞周期等多种生物学功能,与人 GATA2 基因突变导致的多种临床表现一致<sup>[2]</sup>,提示了 GATA2 的细胞生物学功能复杂,有必要进行深入研究。

综上所述,本研究结果显示鸡 GATA2 可以与前脂肪细胞基因组结合调节其基因组转录表达模式,并且其细胞生物学功能复杂多样。

### 参考文献

- [1] Lentjes M H F M, Niessen H E C, Akiyama Y, et al. The emerging role of GATA transcription factors in development and disease [J]. *Expert Rev Mol Med* 2016, 18: e3.
- [2] Calvo K R, Hickstein D D. The spectrum of GATA2 deficiency syndrome [J]. *Blood* 2023, 141(13): 1524-32.
- [3] Ghaben A L, Scherer P E. Adipogenesis and metabolic health [J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 2019, 20(4): 242-58.
- [4] Tsai J, Tong Q, Tan G, et al. The transcription factor GATA2 regulates differentiation of brown adipocytes [J]. *EMBO Rep* 2005, 6(9): 879-84.
- [5] 张志威,陈月婵,裴文宇. 过表达鸡 Gata2 或 Gata3 基因抑制 Ppar $\gamma$  基因的转录 [J]. *中国生物化学与分子生物学报* 2012, 28(9): 835-42.
- [6] Wang W, Zhang T, Wu C, et al. Immortalization of chicken preadipocytes by retroviral transduction of chicken TERT and TR [J]. *PLoS One* 2017, 12(5): e0177348.
- [7] 高琴,张皓,王英军,等. 过表达鸡 Klf2 促进 Klf7 转录抑制脂肪细胞分化 [J]. *生物工程学报* 2023, 39(4): 1670-83.
- [8] Hernandez-Verdun D, Roussel P. Regulators of nucleolar functions [J]. *Prog Cell Cycle Res* 2003, 5: 301-8.
- [9] Ali S A, Zaidi S K, Dacwag C S, et al. Phenotypic transcription factors epigenetically mediate cell growth control [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008, 105(18): 6632-7.
- [10] Ryu M J, Kim S J, Choi M J, et al. Mitochondrial oxidative phosphorylation reserve is required for hormone-and PPAR $\gamma$  agonist-induced adipogenesis [J]. *Mol Cells* 2013, 35(2): 134-41.
- [11] Wu D, Sunkel B, Chen Z, et al. Three-tiered role of the pioneer factor GATA2 in promoting androgen-dependent gene expression in prostate cancer [J]. *Nucleic Acids Res* 2014, 42(6): 3607-22.
- [12] Kitsy A, Carney S, Vivar J C, et al. Effects of leucine supplementation and serum withdrawal on branched-chain amino acid pathway gene and protein expression in mouse adipocytes [J]. *PLoS One*, 2014, 9(7): e102615.
- [13] Yu H, Li R, Huang H, et al. Short-Chain fatty acids enhance the lipid accumulation of 3T3-L1 cells by modulating the expression of enzymes of fatty acid metabolism [J]. *Lipids* 2018, 53(1): 77-84.
- [14] Caron A, Richard D, Laplante M. The roles of mTOR complexes in lipid metabolism [J]. *Annu Rev Nutr* 2015, 35: 321-48.
- [15] He Y H, He Y, Liao X L, et al. The calcium-sensing receptor pro-



- motes adipocyte differentiation and adipogenesis through PPAR $\gamma$  pathway [J]. *Mol Cell Biochem* 2012, 361(1/2): 321–8.
- [16] Rodríguez-Cano M M, González-Gómez M J, Sánchez-Solana B, et al. NOTCH receptors and DLK proteins enhance brown adipogenesis in mesenchymal C3H10T1/2 cells [J]. *Cells*, 2020, 9(9): 2032.
- [17] Ko L J, Engel J D. DNA-binding specificities of the GATA transcription factor family [J]. *Mol Cell Biol*, 1993, 13(7): 4011–22.
- [18] Yu L, Moriguchi T, Kaneko H, et al. Reducing inflammatory cytokine production from renal collecting duct cells by inhibiting GATA2 ameliorates acute kidney injury [J]. *Mol Cell Biol*, 2017, 37(22): e00211–7.

## Action and mechanism of GATA2 overexpression regulating the transcriptome expression of chicken preadipocytes

Wang Yingjun<sup>1,2</sup>, Zhang Tingting<sup>1,2</sup>, Wang Xiaopei<sup>3</sup>, Zhou Xinbei<sup>1,2</sup>, Chen Yuechan<sup>3</sup>, Zhang Zhiwei<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup>Dept of Histology and Embryology, School of Medicine, Shihezi University, Shihezi 832000; <sup>2</sup>Key Laboratory of Xinjiang Ministry of Education for Local and Ethnic High Morbidity, School of Medicine, Shihezi University, Shihezi 832000; <sup>3</sup>Dept of Reproductive Medicine, The First Affiliated Hospital of Shihezi University, Shihezi 832000)

**Abstract** *Objective* To clarify the impact of GATA2 overexpression on transcriptional expression in chicken preadipocytes. *Methods* Chicken preadipocytes ICPI were cultivated, pCMV-myc-GATA2 or pCMV-myc plasmid was transfected, Western blot was used to verify the overexpression of GATA2 in cells, RNA-seq was used to study the changes in cell transcriptome expression caused by overexpression of GATA2, ChIP-seq was used to study the binding of GATA2 in the genome, Real time PCR was used to verify some differentially expressed genes, ChIP-PCR was used to verify the collection of GATA2 to TAF3 genes. *Results* Transfection of pCMV-myc-GATA2 allowed overexpression of GATA2 protein in ICPI cells; overexpression of GATA2 resulted in up-regulation of 942 genes and down-regulation of 840 genes in ICPI cells ( $P < 0.05$ ), and enrichment analysis showed that differentially expressed genes were associated with ribosome and mitochondrial structure and function ( $P < 0.01$ ); GESA analysis showed that the expression of GATA2-overexpressing ICPI cells showed up-regulation of RNA polymerase II transcription initiation complex, ribosome biogenesis, propionate metabolism, and oxidative phosphorylation-related gene sets and down-regulation of histone lysine N-methyltransferase, nuclear transcription repression complex formation, adipokines, and calcium ions signaling pathway-related gene sets. ChIP-seq in ICPI cells identified 2833 GATA2-binding genomic peaks involving 2018 genes. motif analysis revealed GATA2-binding (T/A) GATA motifs; enrichment analysis showed that these genes are involved in embryonic development, signaling, cellular metabolism, and cell-cell interactions. Differently expressed genes and GATA2-binding genes were taken to intersect to obtain 105 genes and enrichment analysis showed that these genes were associated with transcription, post-transcriptional regulation, cell-cell interactions, signaling, and cell cycle ( $P < 0.001$ ). *Conclusion* GATA2 can at least bind to the genome of chicken preadipocytes to regulate their transcriptome expression patterns.

**Key words** chicken; preadipocytes; GATA2; RNA-seq; ChIP-seq; enrichment analysis; GESA analysis