Vol. 26(4):551-557 | Ocean and Polar Research | December 2004

Article

참돔의 lipoprotein lipase 유전자 다형성

장요순 · 홍경표* · 노충환

한국해양연구원 해양생물자원연구본부
(425-600) 경기도 안산시 안산우체국 사서함 29호

Polymorphisms of the Lipoprotein Lipase Gene of Red Seabream, *Pagrus major*

Yo-Soon Jang, Kyung Pyo Hong*, and Choong Hwan Noh

Marine Living Resources Research Division, KORDI
Ansan P.O. Box 29, Seoul 425-600, Korea

Abstract : Polymorphism of the lipoprotein lipase (LPL) gene which plays an important role in regulation of lipid deposition was analysed in two red seabream (*pagrus major*) populations (KF4, cultured KORDI line, n = 100 ; JPN, imported from Japan, n = 100). We amplified a DNA fragment (1,091 bp) including the exon 2 region of the LPL gene, and conducted PCR-RFLP analysis using *Msp*I and *Alu*I. The PCR products were also sequenced. Two alleles (A and B) were found in *Msp*I digestion and five alleles (A, B, C, D and E) in *Alu*I digestion. The sequenced data revealed four nucleotide substitutions including one transversion at the MspI recognition site (nt 2,235, C→G) and three transitions at the *Alu*I recognition sites (nt 1,727, A→G; nt 2,319, C→T; nt 2,319, T→C). Among them, substitutions at the nt 2,235 and 2,319 sites which are located in the exon 2 were proved to be silent point mutations. *Msp*I polymorphism resulted in 3 genotypes, and the allele frequency was significantly different between the two fish populations, KF4 and JPN. In the case of *Alu*I polymorphism, the 5 alleles (A, B, C, D, E) comprised 12 genotypes of the 5 alleles. KF4 population, alleles D and E were specific to the LPL gene polymorphisms would be useful DNA markers for red seabream population.

Key words : 참돔(*Pagrus major*), LPL 유전자(Lipoprotein lipase, LPL), PCR-RFLP, 침묵돌연변이(silent point mutation), DNA 마커(DNA marker)

1. 서 론

Lipoprotein lipase(LPL; triacylglycero-protein acylhydrolase, EC 3.1.1.34)는 지방분해 효소로서 생체 내 여러 조직에서 합성되며 plasma lipoprotein에 있는 triacylglycerol을 가수분해하여 유리 지방산을 공급하고, 지방의 축적 및 산화작용(oxidation)과 관련이 있다(Nilsson-Ehle *et al.* 1980). 또한 LPL은 triglyceride를 가수분해하는 지방대사에 관여하는 주요 효소로서, 사람에 있어서는 비만과 동맥경화 발병에 중요한 역할을 할 뿐만 아니라(Wion *et al.* 1987), 고중성지방혈증(hypertriglyceridemia) 및 HDL2 결핍과 같은 대사질환과도 깊은 관련이 있는 것으로 알려져 있다(Eckel 1989). LPL 유전자의 발현은 동물의 생리, 영양, 발달단계 등에 의해 조직특이적(tissue-specific)인 방법으로 조절된다(Enerback *et al.* 1988; Cooper *et al.* 1989; Semenkovich *et al.* 1989; Tavangar *et al.* 1992). 사람의 LPL 유전자는 전체 크기가 약 30 kb에 걸쳐 10개의 exon과 9개의 intron으로 이루어져 있으며, LPL에 있는 secretion, glycosylation 및 catalysis 등과 같은 여러 functional domain이 잘 알려져 있다(Auwerx *et al.* 1992; Hide *et al.* 1992).

*Corresponding author. E-mail : kphong@kordi.re.kr

cDNA의 크기는 2,315 bp로서 476개의 아미노산을 암호화하고, exon 10번은 번역(translation) 되지 않는다(Deeb and Peng 1989; Strausberg *et al.* 2002).

어류의 LPL 유전자에 관한 연구는 주로 전체적인 구조분석 및 발현양상 분석에 관한 내용으로 이루어졌는데, 현재까지는 zebra fish, 무지개송어 및 참돔에서 연구되었다. Arnault *et al.*(1996)은 zebra fish와 무지개송어의 LPL 유전자의 염기서열을 분석하여, 포유동물 LPL 유전자에서는 exon 9번에 종결 코돈(TGA)이 존재하기 때문에 10번 exon이 번역되지 않지만, 닭을 비롯한 zebra fish와 무지개송어의 LPL 유전자에서는 exon 9번에서 codon이 intron에 의해 쪼개지게 되어 exon 10번이 번역된다고 보고하였다. 따라서 exon 10번은 닭의 경우 15개의 아미노산, zebra fish 및 무지개송어의 경우는 17개의 아미노산을 추가로 암호화한다. Lindberg and Olivecrona(2002)는 전체 크기가 2,022 bp인 무지개송어의 LPL cDNA 염기서열을 모두 밝혔으며(GenBank accession no. AJ224693), cDNA 염기서열로부터 추론한 503개의 아미노산을 비교분석한 결과, zebra fish LPL과 73%의 identity를 나타내었고, N-terminal 및 C-terminal은 모두 사람의 LPL보다 길다고 보고하였다. 한편, 참돔 LPL 유전자의 전체 크기는 약 6.3 kb로서 511개의 아미노산을 암호화한다(Oku *et al.* 2002). Coding 영역은 10개의 exon과 9개의 intron으로 구성되어 있고, 1.1 kb 크기의 5' flanking region에는 CCAAT 및 Oct-1과 유사한 sequence를 비롯하여 glucocorticoid, insulin 및 thyroid hormone 등에 반응하는 element가 존재하는 것으로 알려졌다.

어류에서 체지방량과 관련된 내적·외적 요인의 영향에 대해서는 잘 알려져 있으며, 특히 식이 내 지방/에너지 및 식이 내 지방/체지방 사이의 상관관계는 성장관련 모수를 분석하고 육질을 개선하기 위한 목적으로 연구되어진 바 있다(Watanabe 1982). 양식 산업에 있어서 양식 어류의 성장(growth)은 생산성과 관련 있는 양적형질(quantitative traits)로서 생산성 향상을 위한 유전적 개량의 대표적인 대상형질(target trait)이다. 본 연구는 참돔(*pagrus major*) 집단을 대상으로 지방축적 및 에너지 대사에 관여하는 것으로 알려진 LPL 유전자의 유전적 변이를 분석하였으며, 어류의 성장관련 DNA marker로의 활용 가능성을 알아보았다.

2. 재료 및 방법

실험재료

경남 통영시 소재 한국해양연구원 해상사육시설에서 사육중인 한국산 참돔(KF4)과 2002년 일본 큐슈 지역으로부터 통영 세관을 통해 수입된 일본 양식산 참돔(JPN)을 각각 100마리씩 분석 어류로서 취하였다. 본 연구에서 사용한 분석 어류의 평균전장(±표준편차)은 한국산 참돔은 34.7(±30.4)cm, 일본산 참돔은 41.24(±1.94)cm 였다(Table 1).

Genomic DNA 분리 및 정제

각 참돔 개체의 미병부로부터 혈액을 취하여 0.5 M EDTA와 혼합한 후, Blin and Stafford(1976)의 방법을 다소 변형하여 genomic DNA를 분리하였다. 전혈에 lysis buffer[10 mM Tris-HCl pH7.5, 125 mM NaCl, 10 mM EDTA, 0.5% SDS, 5 M Urea, 0.1 mg/m*l* proteinase K]를 첨가하여 혈구세포를 용해한 후, *Accuprep*® Genomic DNA Extraction Kit(Bioneer Co., Korea)의 column을 사용하여 정제하였다. 분리·정제한 genomic DNA는 전기영동한 후, NanoDrop® ND-1000 Spectrophotometer (NanoDrop Technologies, USA)를 사용하여 농도를 측정하였으며, -80°C에 보관하였다.

DNA Amplification

참돔의 LPL 유전자를 증폭하기 위한 primer를 Oku *et*

Table 1. Summary of red seabream specimens by origin.

Origin[1]	N	Variables[2]	Mean	STD	Min	Max
KF4	100	TL (cm)	34.71	3.04	30.30	41.50
		SL (cm)	30.40	2.70	25.70	36.50
		BW (g)	838.84	241.28	529.00	1,551.00
		CF	29.21	2.29	24.10	34.95
JPN	100	TL (cm)	41.24	1.94	35.50	47.00
		SL (cm)	36.38	1.74	30.50	41.00
		BW (g)	1,396.40	186.87	946.00	1,858.00
		CF	28.96	2.68	23.05	38.29

[1]KF4, cultured KORDI line; JPN, imported from Japan.
[2]TL, total length; SL, standard length; BW, body weight; CF, condition factor = $BW/SL^3 \times 1000$.

al.(2002)이 발표한 LPL 유전자(GenBank Accession No. AB054063) 염기서열을 토대로 제작하였으며, exon 2번 영역을 증폭하기 위하여 Rsb/LPL-1451U(5'-AGGAGATACT ACGTATCACG-3')와 Rsb/LPL-2541L(5'-TATCTGCACTTT ATGACTC-3') primer를 사용하였다. 증폭반응은 genomic DNA 50 ng, PCR buffer[10 mM Tris-HCl (pH8.3), 50 mM KCl, 2.0 mM $MgCl_2$], dNTP mix 200 μM, 각각의 primer 20 ppmole 및 *TaKaRa EX Taq*™ DNA polymerase (TaKaRa Co., Japan) 0.5U을 첨가하여 최종 부피가 25 μl가 되도록 혼합액을 조제한 후, 94°C에서 5분간 미리 변성시켰으며, 94°C에서 30초, 55°C에서 30초, 72°C에서 1분의 조건으로 35회 반응시킨 후(PTC-200, MJ Research, USA), 증폭산물을 1.0% agarose gel 전기영동으로 확인하였다.

PCR-RFLP analysis

PCR-RFLP 분석을 위하여 PCR 증폭산물에 제한효소 *Msp*I 및 *Alu*I을 각각 첨가하여, 37°C에서 3시간 반응시켰다. 각 제한효소에 의해 절단된 PCR 증폭산물은 1.5% 및 2.2% agarose gel에 전기영동하여, 각각의 제한효소에 의한 절단 패턴을 확인하고 유전자형을 분석하였다.

PCR 산물의 Cloning 및 염기서열 분석

pGEM® T-easy Vector System(Promega, USA)을 이용하여 PCR 산물을 cloning하였다. 재조합 clone으로부터 분리·정제한 plasmid DNA를 BigDye Terminator Cycle Sequencing Kit(Applied Biosystems, USA)를 이용하여 염기서열 결정반응을 실시하였다. 반응이 끝난 산물은 알코올 정제 후, ABI 377 DNA Sequencer(Applied Biosystems, USA)를 사용하여 염기서열을 결정하였으며, BLAST search(http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST)를 이용하여 상동성을 검색하였고, DNAstar(DNASTAR, Inc., USA) softwear를 사용하여 염기서열을 분석하였다.

통계분석

한국산 및 일본 양식산 참돔 집단간 유전자형 빈도 차이에 대하여 χ^2 검정을 실시하였다.

3. 결과 및 고찰

본 연구에서는 Oku *et al.*(2002)이 발표한 참돔 LPL 유전자의 염기서열을 토대로 exon 2번 영역을 증폭하기 위한 primer를 제작한 후, PCR 기법으로 전체 1,091 bp 크기의 단편을 증폭하였다. 한국산 및 일본 양식산 참돔의 genomic DNA를 사용하여 분석하였으며, PCR 증폭산물을 제한효소 *Msp*I과 *Alu*I으로 절단하여 단편의 크기 및

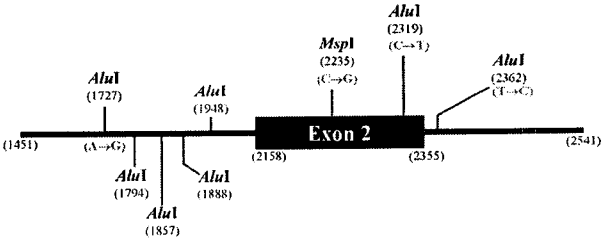

Fig. 1. The partial genomic structure of the red seabream LPL (lipoprotein lipase) gene including parts of intron 1, exon 2 and intron 2 amplified by PCR in this study. The *Msp*I and *Alu*I sites are shown with their positions (numbers below the diagram).

Table 2. Allelic fragments in intron 1, exon 2 and intron 2 of the red seabream LPL gene.

Restriction enzyme	Allele	Fragment length (bp)
*Msp*I	A	785, 306
	B	1091
*Alu*I	A	371, 277, 179, 67, 63, 60, 43, 31
	B	371, 277, 222, 67, 60, 63, 31
	C	371, 344, 222, 63, 60, 31
	D	371, 344, 179, 63, 60, 43, 31
	E	593, 344, 63, 60, 31

형태를 확인하였다. Fig. 1에 나타낸 것처럼 *Msp*I 절단부위는 exon 2번에 위치(nt 2,235번)하였으며, 염기치환으로 인하여 절단되지 않는 단편을 확인하였다. 또한 7개의 *Alu*I 절단부위가 존재하였으며, intron 1번(nt 1,727번), exon 2번(nt 2,319번) 및 intron 3번(nt 2,362번)에서 염기치환이 있었다. 각각의 제한효소에 의해 생성되는 단편의 크기와 대립유전자는 Table 2에 나타낸 바와 같다. *Msp*I 다형성은 2개의 대립유전자와 이로 인한 3개의 유전자형을 보였으며, *Alu*I 다형성은 3곳의 염기치환으로 인해 5개의 대립 유전자와 12개의 유전자형을 나타내었다.

PCR-RFLP 분석으로(Fig. 2A) 제한효소에 의한 절단형태, 단편의 크기 및 대립유전자의 빈도를 분석하였으며, 염기서열을 분석하여 염기치환을 정확하게 분석하였다. *Msp*I 다형성(Fig. 2A)은 2,235번의 염기 C가 G로 염기전환(transversion) 되어 절단되지 않는 형태의 대립유전자가 존재하였으며, 2개의 대립 유전자에 의해 3개의 유전자형이 나타났다. 한국산 및 일본 양식산 참돔 집단에서 *Msp*I 다형성에 따른 유전자형의 빈도가 집단간에 뚜렷한 차이를 보였다($p<0.01$). 한국산 참돔 집단에서는 *Msp*I에 의해 절단되는 형태인 유전자형 AA의 빈도는 0.69인 반면, 일본 양식산 집단에서는 AA의 빈도가 0.29에 불과하였고, 유전자형 AB의 빈도는 0.68이었으며, BB의 빈도는 한국

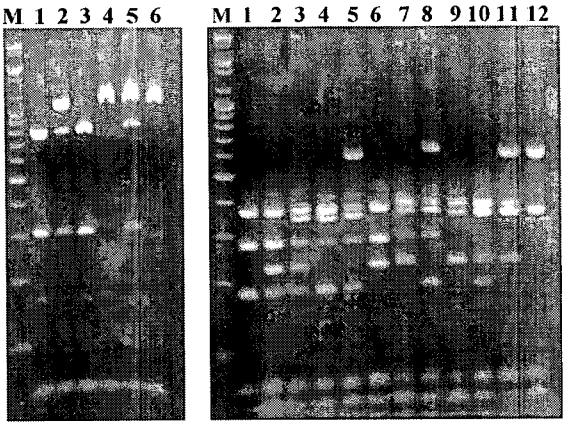

Fig. 2. PCR-RFLP patterns in inton 1, exon 2 and intron 2 of the red seabream LPL gene. (A) *Msp*I PCR-RFLP analysis. M, 100 bp Plus DNA ladder; lane 1 & 3, AA; lane 2 & 5, AB; lane 4 & 6, BB (B) *Alu*I PCR-RFLP analysis. M, 100 bp Plus DNA ladder; lane 1 AA; lane 2, AB; lane 3, AC, BD; lane 4, AD; lane 5 & 8 AE; lane 6, BB; lane 7, BC; lane 9, CC; lane 10, CD; lane 11, CE; lane 12, EE.

산 및 일본 양식산 집단에서 각각 0.02와 0.03이었다. 대립유전자의 빈도를 살펴보면, 한국산 참돔 집단에서는 A가 0.84, B가 0.16이었으며, 일본 양식산 집단은 각각 0.63, 0.37이었다(Table 3). 한국산 및 일본 양식산 집단에서 *Alu*I 다형성을 분석한 결과(Fig. 2B), 3곳의 염기치환으로 인한 5개의 대립유전자(A, B, C, D 및 E) 및 12개의 유전자형을 확인하였다(Table 4). 대립유전자의 다형성은

Table 3. Genotypes and allele frequencies of *Msp*I polymorphism in inton 1, exon 2 and intron 2 of the red seabream LPL gene.

		Genotype frequencies			Allele frequencies	
Group	N	AA	AB	BB	A	B
KF4	93	0.69	0.29	0.02	0.84	0.16
JPN	72	0.29	0.68	0.03	0.63	0.37

*KF4, cultured KORDI line; JPN, imported from Japan.

*Alu*I 위치의 1,727번 염기가 A→G, 2,319번 염기가 C→T 그리고 2,362번 염기가 T→C로 염기전이(transition)가 일어난데 기인하였다. 12개의 유전자형 중 AC와 BD는 절단된 단편의 크기가 동일하여 PCR-RFLP 패턴으로는 구분할 수 없었다(BD는 AC와 함께 나타냄). 한국산 참돔 집단에서는 12개의 유전자형이 모두 존재하는 것을 확인하였고, 5개의 대립유전자의 빈도는 각각 0.21, 0.45, 0.29, 0.04, 0.02였다. 일본 양식산 집단은 A, B 및 C 대립유전자가 각각 0.19, 0.36, 0.45의 빈도로 나타났으며, 대립유전자 D와 E는 나타나지 않았고, 한국산 집단에서는 대립유전자 B의 빈도가 0.45로 가장 높은 반면, 일본 양식산 집단에서는 대립유전자 C의 빈도가 가장 높게 나타났다. 그러나 유전자형 빈도에 있어서 두 집단간에 유의적 차이는 확인할 수 없었다($p>0.05$). 한국산 참돔 집단에서 나타난 AC와 BD 유전자형은 동일한 크기로 절단되어 PCR-RFLP 분석만으로는 구분이 불가능하므로 염기서열 분석이 필요하다. 또한 두 집단간 차이를 명확히 하기 위해서는 개체수를 증가시킨 추가분석이 이루어져야 한다.

Fig. 3은 참돔 LPL 유전자 exon 2번 영역의 아미노산 서열과 본 연구에서 확인한 exon 영역에 존재한 염기치환을 나타낸 것으로(*Msp*I, nt 2,235번; *Alu*I, nt 2,319번), 두 개의 다형성은 아미노산 서열에는 변화를 주지 않는 silent mutation임을 확인하였다. Oku *et al.*(2002)은 참돔 LPL cDNA로부터 추론된 아미노산 서열로 사람, 쥐,

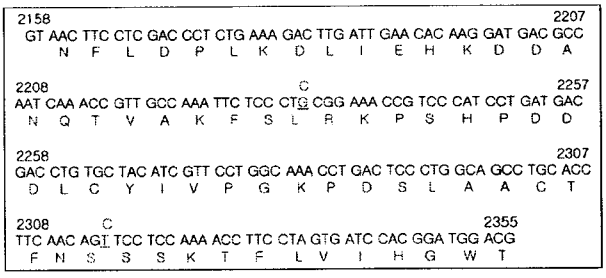

Fig. 3. Nucleotide sequence and deduced amino acid sequences of exon 2 of the red seabream LPL gene. The deduced amino acid sequences (single letter code) are shown below with corresponding nucleotide triplets. The *Msp*I and *Alu*I polymorphic sites are underlined.

Table 4. Genotypes and allele frequencies of *Alu*I polymorphism in inton 1, exon 2 and intron 2 of the red seabream LPL gene.

		Genotype frequencies											Allele frequencies				
Group	N	AA	AB	AC	AD	AE	BB	BC	CC	CD	CE	EE	A	B	C	D	E
KF4	93	0.01	0.23	0.14	0.01	0.01	0.25	0.17	0.11	0.05	0.01	0.01	0.21	0.45	0.29	0.04	0.02
JPN	72	0.04	0.11	0.19	0.00	0.00	0.14	0.33	0.19	0.00	0.00	0.00	0.19	0.36	0.45	0.00	0.00

*KF4, cultured KORDI line; JPN, imported from Japan.

guinea pig, 닭, 무지개송어 및 zebra fish의 아미노산과 상동성 검색을 실시한 결과, N-terminal domain(exon 2-6) 부분은 59~61%, C-terminal domain(exon 7-10) 부분은 33~39%의 identity를 나타내었다고 보고하였다. 또한, N-glycosylation site의 위치 및 수가 참돔 LPL은 4개를 가진 반면에, 사람, mouse 및 guinea pig는 2개를 가지고 있었고, 조류 LPL에는 3개가 존재하는 것으로 종(species)간에 차이가 있음을 확인하였으며, 종(species)간에 exon 2번과 8번에서 길이의 차이가 있었지만, functional N-glycosylation site 및 두 개의 cystein 잔기는 잘 보존되어 있는 것으로 보아, LPL의 기능에 있어 참돔과 다른 척추동물간에는 거의 차이가 없는 것으로 보고하였다.

LPL 유전자의 다형성 분석에 관한 연구는 사람에서 가장 활발히 이루어졌는데, LPL-*Hind*III 다형성이 triglyceride와 HDL-cholesterol level 변화와 관련이 있고, LPL-*Hind*III 다형성이 intron 8번에 위치하기 때문에, LPL protein의 activity나 구조변화를 초래하지는 않을 것으로 판단하였다. 또한 LPL 유전자의 *Hind*III 다형성과 intron 6번에 위치한 *Pvu*II 다형성은 adipocity, plasma lipid의 변이는 물론 심각한 동맥경화 및 type II 당뇨의 발병과 관련이 있으며, 이들 다형성이 non-coding region에 위치하지만, LPL의 아미노산 서열 및 activity를 변화시키는 functional mutation을 확인할 수 있는 marker가 될 수 있다고 보고하였다(Chamberlain *et al.* 1989; Heizmann *et al.* 1991; Jemaa *et al.* 1995; Mattu *et al.* 1994; Wang *et al.* 1996).

지금까지 LPL에 관한 연구는 약 14가지의 생물종에서 연구가 이루어졌으며, 포유동물 및 조류 LPL 유전자는 10개의 exon과 9개의 intron으로 구성되어 있고(Deeb and Peng 1989; Kirchgessner *et al.* 1989; Enerback and Bjursell 1989; Zechner *et al.* 1991; Cooper *et al.* 1992), exon 1번에는 secretion에 필요한 signal peptide, exon 2번에는 functional N-glycosylation site, exon 4번에는 catalytic serine 및 lipid binding 영역, exon 6번에는 putative heparin binding 영역 그리고 exon 10번에는 3' untranslated sequence가 위치하고 있는 것으로 알려져 있다(Auwerx *et al.* 1992; Hide *et al.* 1992). LPL 유전자의 발현양상에 관한 연구는 지방세포 및 근육조직에서 주로 수행되었으며, 영양상태에 따른 LPL 유전자의 발현은 설치류 및 사람의 경우 지방 및 근육조직에서 LPL mRNA가 완전한 상호조절(down-regulation in adipose tissue and up-regulation in muscle under starvation)이 이루어짐을 확인하였다(Enerback and Gimble 1993; Zechner 1997). Oku and Ogata(2000)는 LPL 유전자가 포유동물과는 달리 어류의 간 조직에서 발현된다는 연구(Black *et al.* 1983)를 토대로 참돔의 간 조직에서 LPL 유전자의 발현을 분명히 밝히기 위하여 영양상태에 따른 LPL 유전자 발현양상이 내장지방 조직과 간 조직에서 어떻게 다른지 비교분석하였고, 현저한 체지방 축적을 유도하기 위한 연구를 수행하기도 하였다.

4. 결 론

이 연구는 한국산 및 일본 양식산 참돔 집단에서 지방축적에 관여하는 LPL 유전자의 변이를 비교분석하였다. Exon 2번을 포함하는 1,091 bp 크기의 DNA 단편을 증폭한 후, 제한효소 *Msp*I과 *Alu*I을 사용하여 PCR-RFLP 분석을 실시하였다. *Msp*I 및 *Alu*I 절단부위에서 4개의 염기치환을 확인하였으며, 이들은 염기서열 분석 결과, 1개의 염기전환과 3개의 염기전이가 일어났다. *Msp*I 절단부위인 2,235번의 염기는 C가 G로 전환되어 절단되지 않았고, 3개의 *Alu*I 절단부위(1,727번, 2,319번 및 2,319번 염기)가 각각 A→G, C→T 및 T→C로 바뀌어 있었다. 이들 중 2,235번과 2,319번 염기의 치환은 exon에 위치한 것으로 아미노산 서열에는 변화를 주지 않는 silent mutation이었다. *Msp*I 다형성은 PCR-RFLP 분석결과 3개의 유전자형을 갖고 있었으며, 한국산 및 일본 양식산 참돔 집단 간에 유전자형의 빈도 차이가 있었다. 또 *Alu*I 다형성 분석 결과, 5개의 대립유전자(A, B, C, D, E)와 12개의 유전자형이 존재하였으며, 대립유전자의 빈도가 두 집단간에 뚜렷한 차이를 보였고, 대립유전자 D와 E는 한국산 참돔 집단에서만 나타났다. 본 연구에서 확인한 참돔의 LPL 유전자에 위치한 다형성은 향후 어류의 성장관련 marker 확보에 유용한 기초 자료로 활용되어질 것으로 판단된다.

사 사

이 연구는 해양수산부의 "바다목장화 개발사업", 경남생명공학 과제인 "돔류의 양식생산성 향상을 위한 유전능력 개량연구" 및 한국해양연구원의 기본과제(PE87200)로부터 연구비의 일부를 지원받아 수행하였으며, 연구비 지원에 감사를 드린다.

참고문헌

Arnault, F., J. Etienne, L. Noe, A. Raisonnier, D. Brault, J.W. Harney, M.J. Berry, C. Tse, C. Fromental-Ramain, J. Hamelin, and F. Galibert. 1996. Human lipoprotein lipase last exon is not translated, in contrast to lower vertebrates. *J. Mol. Evol.*, 43, 109-115.

Auwerx, J., P. Leroy, and K. Schoonjans. 1992. Lipoprotein lipase: recent contributions from molecular biology. *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.*, 29, 243-268.

Black, D., S.A. Kirkpatrick, and E.R. Skinner. 1983. Lipoprotein lipase and salt-resisitant lipase activities in the livers of the rainbow trout and cod. *Biochem. Soc. Trans.*, 11, 708.

Blin, N. and D.W. Stafford. 1976. A general method for isolation of high molecular weight DNA from eukaryotes. *Nucleic Acids Res.*, 3, 2303-2308.

Chamberlain, J.C., J.A. Thorn, K. Oka, D.J. Galton, and J. Stocks. 1989. DNA polymorphisms at the lipoprotein lipase gene: associations in normal and hypertriglyceridaemic subjects. *Atherosclerosis*, 79, 85-91.

Cooper, D.A., J.C. Stein, P.J. Strieleman, and A. Bensadoun. 1989. Avian adipose lipoprotein lipase: cDNA sequence and reciprocal regulation of mRNA levels in adipose and heart. *Biochim. Biophys. Acta.*, 1008, 92-101.

Cooper, D.A., S.C. Lu, R. Viswanath, R.N. Freiman, and A. Bensadoun. 1992. The structure and complete nucleotide sequence of the avian lipoprotein lipase gene. *Biochim. Biophys. Acta.*, 1129, 166-171.

Deeb, S.S. and R.L. Peng. 1989. Structure of the human lipoprotein lipase gene. *Biochemistry*, 28, 4131-4135.

Eckel, R.H. 1989. Lipoprotein lipase: a multifunctional enzyme relevant to common metabolic diseases. *New Eng. J. Med.*, 320, 1060-1068.

Enerback, S. and G. Bjursell. 1989. Genomic organization of the region encoding guinea pig lipoprotein lipase; evidence for exon fusion and unconventional splicing. *Gene*, 84, 391-397.

Enerback, S. and J.M. Gimble. 1993. Lipoprotein lipase gene expression: physiological regulators at the transcriptional and post-transcriptional level. *Biochim. Biophys. Acta.*, 1169, 107-125.

Enerback, S., H. Semb, J. Tavernier, G. Bjursell, and T. Olivecrona. 1988. Tissue-specific regulation of guinea pig lipoprotein lipase; effects of nutritional state and of tumor necrosis fctor on mRNA levels in adipose tissue, heart and liver. *Gene*, 64, 97-106.

Heizmann, C., T. Kirchgessner, P.O. Kwiterovich, J.A. Ladias, C. Derby, S.E. Antonarakis, and A.J. Lusis. 1991. DNA polymorphism haplotypes of the human lipoprotein lipase gene: possible association with high density lipoprotein levels. *Hum. Genet.*, 86, 578-584.

Hide, W.A., L. Chan, and W.H. Li. 1992. Structure and evolution of the lipase superfamily. *J. Lipid Res.*, 33, 167-178.

Jemaa, R., F. Fumeron, O. Poirier, L. Lecerf, A. Evans, D. Arveiler, G. Luc, J.P. Cambou, J.M. Bard, J.C. Fruchart, M. Apfelbaum, F. Cambien, and L.L. Tiret. 1995. Lipoprotein lipase gene polymorphisms: associations with myocardial infarction and lipoprotein levels, the ECTIM study. Etude Cas Temoin sur l'Infarctus du Myocarde. *J. Lipid Res.*, 36, 2141-2146.

Kirchgessner, T.G., J.C. Chuat, C. Heinzmann, J. Etienne, S. Guilhot, K. Svenson, D. Ameis, C. Pilon, L. d'Auriol, A. Andalibi, M.C. Schotz, F. Galibert, and A.J. Lusis. 1989. Organization of the human lipoprotein lipase gene and evolution of the lipase gene family. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 86, 9647-9651.

Lindberg, A. and G. Olivecrona. 2002. Lipoprotein lipase from rainbow trout differs in several respects from the enzyme in mammals. *Gene*, 292, 213-223.

Mattu, R.K., E.W. Needham, R. Morgan, A. Rees, A.K. Hackshaw, J. Stocks, P.C. Elwood, and D.J. Galton. 1994. DNA variants at the LPL gene locus associate with angiographically defined severity of atherosclerosis and serum lipoprotein levels in a Welsh population. *Arterioscler. Thromb.*, 14, 1090-1097.

Nilsson-Ehle, P., A.S. Garfinkel, and M.C. Schotz. 1980. Lipolytic enzymes and plasma lipoprotein metabolism. *Annu. Rev. Biochem.*, 49, 667-693.

Oku, H. and H.Y. Ogata. 2000. Body lipid deposition in juveniles of red sea bream *Pagrus major*, yellowtail *Seriola quinqueradiata*, and Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *Fish. Sci.*, 66, 25-31.

Oku, H., H.Y. Ogata, and X.F. Liang. 2002. Organization of the lipoprotein lipase gene of red sea bream Pagrus major. *Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol.*, 131, 775-785.

Semenkovich, C.F., S.H. Chen, M. Wims, C.C. Luo, W.H. Li, and L. Chan. 1989. Lipoprotein lipase and hepatic lipase mRNA tissue specific expression, developmental regulation, and evolution. *J. Lipid Res.*, 30, 423-431.

Strausberg, R.L., E.A. Feingold, L.H. Grouse, J.G. Derge, R. D. Klausner, F.S. Collins, L. Wagner, C.M. Shenmen, G.D. Schuler, S.F. Altschul, B. Zeeberg, K.H. Buetow, C.F. Schaefer, N.K. Bhat, R.F. Hopkins, H. Jordan, T. Moore, S.I. Max, J. Wang, F. Hsieh, L. Diatchenko, K. Marusina, A.A. Farmer, G.M. Rubin, L. Hong, M. Stapleton, M.B. Soares, M.F. Bonaldo, T.L. Casavant, T.E. Scheetz, M.J. Brownstein, T.B. Usdin, S. Toshiyuki, P. Carninci, C. Prange, S.S. Raha, N.A. Loquellano, G.J. Peters, R.D. Abramson, S.J. Mullahy, S.A. Bosak, P.J. McEwan, K.J. McKernan, J.A. Malek, P.H. Gunaratne, S. Richards, K.C. Worley, S. Hale, A.M. Garcia, L.J. Gay, S.W. Hulyk, D.K. Villalon, D.M. Muzny, E.J. Sodergren, X. Lu, R.A. Gibbs, J. Fahey, E. Heltonc, M. Ketteman, A. Madan, S. Rodrigues, A. Sanchez, M. Whiting, A. Madan, A.C. Young, Y. Shevchenko, G.G.

Bouffard, R.W. Blakesley, J.W. Touchman, E.D. Green, M.C. Dickson, A.C. Rodriguez, J. Grimwood, J. Schmutz, R.M. Myers, Y.S. Butterfield, M.I. Krzywinski, U. Skalska, D.E. Smailus, A. Schnerch, J.E. Schein, S.J. Jones, and M.A. Marra. 2002. Generation and initial analysis of more than 15,000 full-length human and mouse cDNA sequences. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 99, 16899-16903.

Tavangar, K., Y. Murata, S. Patel, J.E. Kalinyak, M.E. Pedersen, J.F. Goers, A.R. Hoffman, and F.B. Kraemer. 1992. Developmental regulation of lipoprotein lipase in rats. *Am. J. Physiol.*, 262, E330-337.

Wang, X.L., R.M. McCredie, and D.E. Wilcken. 1996. Common DNA polymorphisms at the lipoprotein lipase gene. Association with severity of coronary artery disease and diabetes. 93, 1339-1345.

Watanabe, T. 1982. Lipid nutrition in fish. *Comp. Biochem. Physiol.*, 73B, 3-15.

Wion, K.L., T.G. Kirchgessner, A.J. Lusis, M.C. Schotz, and R.M. Lawn. 1987. Human lipoprotein lipase complementary DNA sequence. *Science*, 235, 1638-1641.

Zechner, R. 1997. The tissue-specific expression of lipoprotein lipase: implications for energy and lipoprotein metabolism. *Curr. Opin. Lipidol.*, 8, 77-88.

Zechner, R., T.C. Newman, E. Steiner, and J.L. Breslow. 1991. The structure of the mouse lipoprotein lipase gene: a B1 repetitive element is inserted into the 3' untranslated region of the mRNA. *Genomics*, 11, 62-76.

Received Jun. 21, 2004
Accepted Nov. 16, 2004