

DOI:10.3969/j.issn.1003-5060.2025.12.011

# 利用 *cpl-1(qx304)*;MAH215 转基因线虫 研究 CPL-1 在自噬中的作用

周颖, 刘健, 林燕

(合肥工业大学 食品与生物工程学院, 安徽 合肥 230601)

**摘要:**秀丽隐杆线虫是一种被广泛使用的衰老模型,其溶酶体介导的自噬水平随衰老进程逐渐下降;溶酶体组织蛋白酶 L 样蛋白(cathepsin L-like protease, CPL-1)作为溶酶体中的一种关键组织蛋白酶,其在衰老调控中的作用尚不明确。为了研究 CPL-1 在衰老过程中的作用,文章利用 *cpl-1* 缺失线虫 *cpl-1(qx304)* 与自噬底物 LGG-1 双荧光(绿色和红色)标记的转基因线虫 MAH215(*sq I s II [lgg-1p::mCherry::gfp::lgg-1+rol-6]*)进行杂交,通过荧光监测线虫表型,再对其进行 DNA 测序分析,筛选出成功表达 *mCherry::GFP::LGG-1* 的 *cpl-1* 缺失线虫 *cpl-1(qx304)*;MAH215。通过荧光表达监测,发现随着衰老的进程,野生型 MAH215 线虫中 LGG-1 的黄色荧光(红色和绿色荧光共定位)表达显著增加,而 *cpl-1* 缺失进一步增加 LGG-1 的黄色荧光水平。研究结果表明:在衰老过程中,自噬水平降低,自噬底物 LGG-1 逐步聚集;而 *cpl-1* 缺失则进一步增加 LGG-1 的聚集,加速了衰老的进程。因此,通过构建的 *cpl-1(qx304)*;MAH215 转基因线虫确定了 CPL-1 在衰老相关自噬调控中的重要作用。

**关键词:**秀丽隐杆线虫;自噬;衰老;组织蛋白酶 L 样蛋白(CPL-1);杂交

中图分类号:Q321.2

文献标志码:A

文章编号:1003-5060(2025)12-1652-06

## Using *cpl-1(qx304)*;MAH215 transgenic *Caenorhabditis elegans* to investigate the role of CPL-1 in aging-related autophagy

ZHOU Ying, LIU Jian, LIN Yan

(School of Food and Biological Engineering, Hefei University of Technology, Hefei 230601, China)

**Abstract:** *Caenorhabditis elegans* is a widely used aging model, in which lysosome-mediated autophagy is gradually reduced with aging. However, the role of the lysosomal cathepsin L-like protease (CPL-1), a critical lysosomal protease, in the regulation of aging remains unclear. In order to explore the role of CPL-1 in aging process, the *cpl-1* deleted worm *cpl-1(qx304)* was used to cross with the transgenic nematode MAH215(*sq I s II [lgg-1p::mCherry::gfp::lgg-1+rol-6]*), a dual-labeled autophagy substrate (LGG-1) with red and green fluorescence (*mCherry::GFP::LGG-1*). Through the fluorescence expression determination and DNA sequence analysis, it was confirmed that the transgenic worm *cpl-1(qx304)*;MAH215 was successfully constructed with the expression of *mCherry::GFP::LGG-1* and deficiency of *cpl-1*. Furthermore, the expression of *mCherry::GFP::LGG-1* was explored, and it was found that the yellow fluorescence (red and green fluorescence co-localization) expression in wild-type MAH215 worms was significantly increased during aging process, and further increased in *cpl-1* deleted worms. The research revealed that the autophagy substrate LGG-1 was

收稿日期:2023-12-18;修回日期:2024-02-21

基金项目:国家自然科学基金资助项目(32070757);中央高校基本科研业务费专项资金资助项目(JZ2022HGQA0236)

作者简介:周颖(1999—),女,安徽安庆人,合肥工业大学硕士生;

刘健(1970—),男,安徽合肥人,博士,合肥工业大学研究员,博士生导师;

林燕(1986—),女,安徽蚌埠人,博士,合肥工业大学讲师,通信作者, E-mail:2020800035@hfut.edu.cn.

gradually accumulated during aging, and *cpl-1* deficiency further increased LGG-1 expression, thereby accelerating the aging process. In conclusion, by constructing *cpl-1(qx304)*;MAH215 transgenic worms, the important role of CPL-1 in lysosome-mediated autophagy and the regulation of aging is confirmed.

**Key words:** *Caenorhabditis elegans*; autophagy; aging; cathepsin L-like protease(CPL-1); cross

## 0 引 言

秀丽隐杆线虫(*Caenorhabditis elegans*) (简称线虫)广泛生活在温带地区土壤中,因其与人类基因高度同源,并且具有形态小、生命周期短的特点,被广泛用于寿命相关研究中<sup>[1-2]</sup>。溶酶体是单一的膜结合细胞器,含有多种酸性水解酶,负责细胞代谢废物的降解并维持细胞稳态。研究表明,线虫衰老过程中伴随着溶酶体形态、数量、酸度和功能的障碍性改变<sup>[3]</sup>。溶酶体在细胞代谢物降解中发挥重要作用,因此溶酶体功能损伤会影响毒性蛋白等细胞代谢废物的清除,不利于线虫的健康和长寿<sup>[4-5]</sup>。溶酶体相关基因的表达随着年龄的增长而缩减,而线虫长寿相关基因 *daf-2*、*eat-2* 和 *isp-1* 的突变体中的溶酶体年龄相关性变化得到恢复,同时溶酶体基因的表达得以上调<sup>[3]</sup>。这些研究表明溶酶体功能对寿命的调节至关重要。

秀丽隐杆线虫的 LC3 和 GABARAP 家族的单一同源物分别命名为 LGG-2 和 LGG-1,其中 LGG-1 是秀丽隐杆线虫自噬和发育的重要蛋白,定位在自噬小体膜上。自噬由待降解底物被包裹在自噬小体中,并被传递到溶酶体中进行降解<sup>[6-7]</sup>。文献[8]采用绿色荧光蛋白(green fluorescent protein,GFP)标记的 LGG-1 荧光点作为线虫自噬小体标记物来衡量自噬水平<sup>[8]</sup>,但 GFP 作为酸敏感蛋白,进入溶酶体酸性环境中会发生淬灭,并且线虫体内还存在肠道微生物及脂褐脂等光源对荧光结果造成干扰,因此,研究者在 GFP 作为标记荧光的基础上又融合红色荧光蛋白(mCherry),使之同时标记 LGG-1 蛋白,构建了能表达 mCherry::GFP::LGG-1 蛋白的线虫品系 MAH215 (*sq I s II [lgg-1p::mCherry::gfp::lgg-1+rot-6]*),可对自噬小体进行可视化监测,在与溶酶体融合前,GFP 与 mCherry 蛋白随着 LGG-1 蛋白定位在自噬小体膜上,重叠呈黄色荧光点状结构,并代表自噬小体,反之形成自噬溶酶体后,GFP 进入酸性环境中发生淬灭<sup>[9]</sup>。

细胞自噬是溶酶体进行胞内消化过程的 3 种基本途径之一,因此溶酶体功能与自噬底物的降

解水平密切相关。溶酶体中的多种酸性水解酶参与胞内和胞外的蛋白降解,组织蛋白酶在其中发挥重要功能<sup>[10]</sup>。组织蛋白酶 L 样蛋白(cathepsin L-like protease,CPL-1)的表达量增加可部分缓解溶酶体功能障碍,反之 *cpl-1* 缺失会影响底物消化并导致溶酶体膜破裂<sup>[11]</sup>。

目前对 CPL-1 的研究主要集中于调控生物体脂质合成、凋亡细胞清除、神经肽成熟等<sup>[12-15]</sup>,而其在溶酶体功能和自噬调控过程中的具体作用尚不清楚<sup>[16]</sup>。为了探索 CPL-1 对溶酶体功能的调节作用,本文利用红绿荧光共同标记自噬小体上 LGG-1 的转基因线虫,与 *cpl-1* 缺失突变体 *cpl-1(qx304)* 通过杂交技术构建 *cpl-1* 缺失的双荧光转基因线虫,可直观地呈现 *cpl-1* 突变后线虫自噬小体的含量变化。本研究发现自噬底物 LGG-1 黄色荧光水平随着衰老的进程而增加,且在 *cpl-1* 缺失后进一步增加,说明 *cpl-1* 缺失会加速线虫衰老。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验材料

MAH215 (*sq I s II [lgg-1p::mCherry::gfp::lgg-1+rot-6]*) 线虫购于线虫遗传中心(*Caenorhabditis* Genetics Center,CGC);*cpl-1* 突变体 *cpl-1(qx304)* 品系线虫由中国科学院遗传与发育生物学研究所研究员杨崇林赠予。

### 1.2 主要试剂

CPL-1 抗体为自制抗体<sup>[14]</sup>;β-Tubulin 抗体购于碧云天生物科技有限公司;羊抗兔 IgG-HRP 购于博士德生物公司;ECL 显影液购于 Thermo Scientific;蛋白胨、琼脂粉、胆固醇、酵母膏、胰蛋白胨均购于 Sigma 试剂公司;氯化钠、十二水合硫酸镁、无水氯化钙等试剂均购于国药集团化学试剂有限公司;链霉素、左旋咪唑等均购于 Sigma-Aldrich 试剂公司。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 线虫培养基的配制

线虫生长型培养基(Nematode Growth Medium,NGM)的配制方法如下:200 mL 培养基中

加入氯化钠 0.6 g、蛋白胨 0.5 g、琼脂粉 4.0 g、蒸馏水 195 mL, 121 °C、100 kPa 高温灭菌 30 min; 冷却至 65 °C 左右, 以 1 : 1 000 的比例添加 1 mol/L MgSO<sub>4</sub>、1 mol/L CaCl<sub>2</sub>、5 mg/mL 胆固醇、30 mg/mL 链霉素、磷酸钾缓冲液 5 mL, 混匀后铺板。

### 1.3.2 线虫培养及同步化

在 20 °C 下, 线虫生长在含有大肠杆菌 OP50 菌液的 NGM 培养基上。使用 M9 缓冲液(3 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>、6 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>、5 g NaCl、1 mL 1 mol/L MgSO<sub>4</sub>, 补 H<sub>2</sub>O 至 1 L)将生长至成年时期的虫体洗至 1.5 mL EP 管中, 快速离心, 弃上清, 反复洗去 OP50, 留 700 μL 虫液; 加入 300 μL 现配裂解液(5 mol/L NaOH 和 5% NaClO 以 1 : 2 的体积比混合), 避光操作, 震荡混匀, 等待 2~5 min, 待约 2/3 的虫体裂解后立即离心, 弃上清; 用 M9 缓冲液洗 2 遍, 将虫卵沉淀转移至无食物的线虫生长型培养基中, 20 °C 孵化 12 h; 待同步化的线虫生长至 L1 时期后, 转移到含有 OP50 的 NGM 培养基中培养; 线虫生长至成年时期后, 收取相应天数的成虫进行后续实验。

### 1.3.3 PCR 反应体系及反应程序

50 μL 聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)的反应体系如下: 25.0 μL 2×ES Taq Master mix; 1.0 μL 上游引物; 1.0 μL 下游引物; 2.5 μL DNA 模板; ddH<sub>2</sub>O 20.5 μL。引物序列见表 1 所列。

PCR 反应程序如下: 94 °C 变性 5 min; 94 °C 变性 30 s, 60 °C 复性 30 s, 72 °C 延伸 30 s, 30 个循环; 72 °C 延伸 10 min, 4 °C 保存。

表 1 PCR 的引物序列

基因	引物方向	引物序列
<i>cpl-1</i> (T03E6.7)	F	ATAGGTCTGCTCCTCGCTCT
	R	AGCAAGCACTTTCACCCCTA

### 1.3.4 胶回收及测序

用胶回收试剂盒回收 PCR 扩增产物, 送生工生物工程(上海)股份有限公司测序。用 Chromas 软件分析测序结果。

### 1.3.5 线虫总蛋白提取及蛋白免疫印迹分析

分别收取 5 000 只成年第 1 天、第 3 天、第 5 天和第 9 天的线虫, 用 M9 缓冲液洗净, 加入 200 μL 含 1% 蛋白酶抑制剂的蛋白裂解液(RIPA), 冰上匀浆 3 min, 离心消泡, 再补加 100 μL

RIPA。匀浆后放在冰上摇晃 2 h, 摇晃后的组织在 4 °C、12 000g 条件离心 30 min, 吸取 240 μL 体积的上清, 加入 60 μL 含 β-巯基乙醇的 5×SDS 上样缓冲液, 100 °C 孵育 10 min。取 30 μg 蛋白样品进行十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE), 80 V 恒压电泳 30 min 后, 在 120 V 条件下电泳 90 min, 用湿转法将蛋白转移至 PVDF 膜(Millipore, USA)。

用含 5% 脱脂奶粉的 PBST 室温封闭 2 h, 一抗 β-Tubulin 或 CPL-1 抗体(自制)在 4 °C 条件下孵育过夜, 二抗为羊抗兔 IgG-HRP, 室温孵育 2 h, 最后使用 ECL 试剂盒(Thermo)反应, 并利用 Image Quant LAS4000 mini (GE Healthcare) 成像。

### 1.3.6 荧光成像及定量分析

将第 1 天、第 3 天、第 5 天和第 9 天的 MAH215 线虫或 *cpl-1*(*qx304*); MAH215 线虫用 50 μmol/L 左旋咪唑麻醉, 置于 2% 琼脂糖垫上, 使用荧光显微镜(Leica DM4B)对至少 30 只线虫进行成像, 并使用 Image-Pro Plus 6.0 软件(Media Cybernetics)定量分析黄色荧光面积比率。

### 1.3.7 统计学处理

所有数据以平均值±标准差表示, 重复 3 次。不同组之间使用 t 检验, \* 表示  $P < 0.05$  具有统计学差异, \*\*\* 表示  $P < 0.001$  具有极其显著的统计学差异。

## 2 结果与分析

### 2.1 杂交并筛选纯合双荧光后代

将雄性 MAH215 线虫与 *cpl-1* 缺失的雌雄同体线虫进行杂交, 转基因线虫杂交流程如图 1 所示。为了方便确定杂交是否成功, 本研究利用双荧光雄性 MAH215 与雌雄同体 *cpl-1* 缺失线虫杂交, 挑选表达双荧光的纯合后代<sup>[17]</sup>。分别挑取 8 只左右 MAH215 雄虫与 *cpl-1*(*qx304*)雌雄同体线虫在 20 °C 培养条件下进行杂交, 挑出 F1 代具有双荧光的线虫单独培养 3 d 左右, 产生 F2 代, 挑出 50 只 F2 代线虫单独培养产生 F3 代, 观察 F3 代中荧光表达情况。在荧光显微镜下观察并统计 F2 代性状分离情况为非纯合子代 39 只, 纯合子代 11 只, 发现杂交后产生 F3 代中全部具有双荧光的 F2 代占总 F2 代个体的 11/39, 约 1/4, 符合孟德尔遗传定律。本研究筛选出表达荧光蛋白的纯合后代, 将进一步确定这些后代中的 *cpl-1* 纯合突变体。

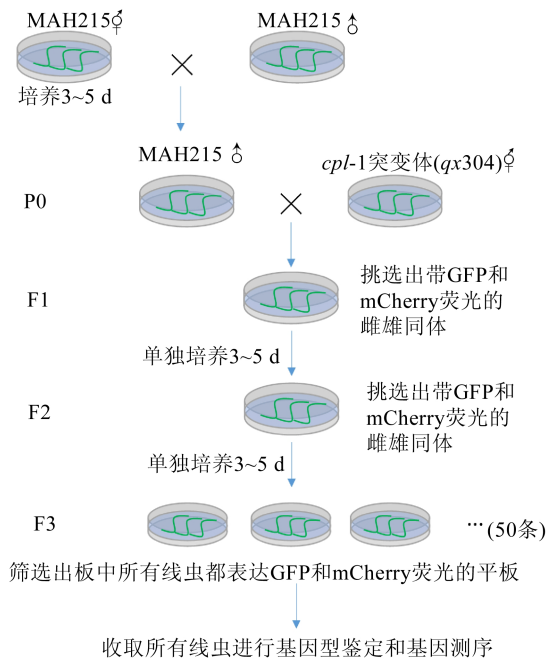


图 1 转基因线虫杂交流程

### 2.2 基因扩增验证 *cpl-1* 基因突变

通过荧光观察法只能筛选出双荧光纯合子线虫,而 *cpl-1* 突变基因是否纯合尚不能确定。已知 *cpl-1(qx304)* 线虫的 *cpl-1* 基因第 115 位碱基由 C 突变为 T,为了检测 F2 代杂交线虫的 *cpl-1* 突变基因是否纯合,本研究对线虫总基因组进行提取,并以其基因组 DNA 为模板,通过 PCR 扩增 *cpl-1* 基因。*cpl-1* 目的片段扩增结果如图 2 所示。图 2 中泳道 1~泳道 11 为扩增的 *cpl-1* 片段。从图 2 可以看出,*cpl-1* 基因全部扩增出来,条带大小为 428 bp。

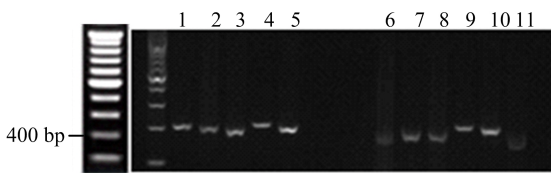


图 2 *cpl-1* 目的片段

将 *cpl-1* 扩增得到的目的条带进行胶回收,并送生工生物工程(上海)股份有限公司进行测序。文献[11]研究表明,在 *qx304* 突变体中,*cpl-1* 基因的起始密码子 ATG 突变为 ATA,即其基因组中的 CAT 突变为 TAT,导致相对于野生型蛋白在蛋氨酸 52 位点处起始翻译,从而使 CPL-1 蛋白缺少前 51 个氨基酸。

用 Chromas 软件对 *cpl-1* 进行测序分析,结果如图 3 所示。

由图 3 可知,杂合子在箭头所指的位置会出现双峰,而纯合情况下则出现单峰。分析测序结果发现,在 11 个样本中筛选出 4 个 *cpl-1(qx304)*;MAH215 纯合转基因线虫,最后对其表型作进一步鉴定。

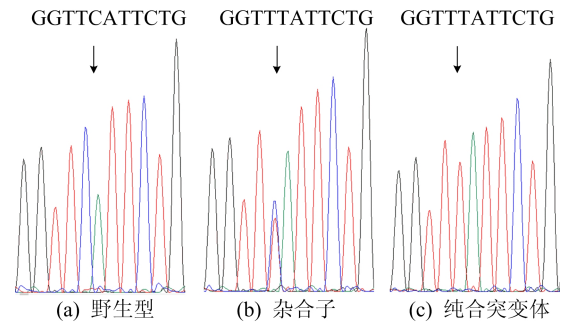


图 3 *cpl-1* 测序结果

### 2.3 *cpl-1* 缺失的双荧光线虫表型鉴定

将所筛选出来的转基因线虫进行繁育,在荧光显微镜下的成像结果如图 4 所示。从图 4 可以看出,双荧光线虫体内有黄色荧光点状结构,推测可能是 GFP 尚未淬灭的 LGG-1,代表自噬小体结构,该结构也在 *cpl-1* 突变的双荧光线虫中出现。

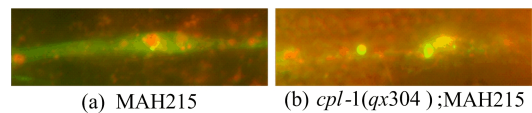


图 4 LGG-1 荧光点图片

通过免疫印迹分析比较野生型和 *cpl-1(qx304)*;MAH215 转基因线虫中 CPL-1 蛋白表达量的改变,其表达情况如图 5 所示。

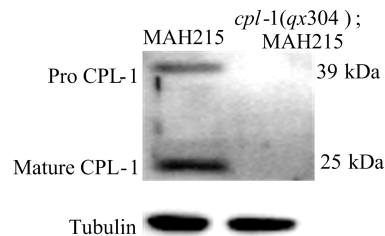


图 5 *cpl-1* 突变的双荧光转基因线虫中 CPL-1 蛋白表达情况

由图 5 可知,在 *cpl-1(qx304)*;MAH215 突变体中成熟的 CPL-1 蛋白(25 kDa)几乎无表达,相反在野生型中可以明显检测到 CPL-1 蛋白条带。结果表明,本文成功构建了表达双荧光的 *cpl-1* 突变体转基因线虫。

## 2.4 *cpl-1* 缺失对线虫自噬损伤的影响

基于 mCherry::GFP::LGG-1 蛋白中 GFP 的酸敏感性,在自噬小体与溶酶体融合后 GFP 发生淬灭,因此 GFP 与 mCherry 共定位所呈现的黄色荧光点表示尚未与溶酶体融合的自噬小体。为了探索 CPL-1 在线虫溶酶体功能及自噬流中的重要作用,本文对所构建的双荧光转基因线虫进行显微成像,成像图如图 6 所示,定量分析结果如图 7 所示。

从图 6 可以看出,随着线虫日龄的增长,线虫体内含有更多黄色荧光点代表的自噬小体(白色箭头),说明自噬流受阻,自噬溶酶体功能发生障碍。

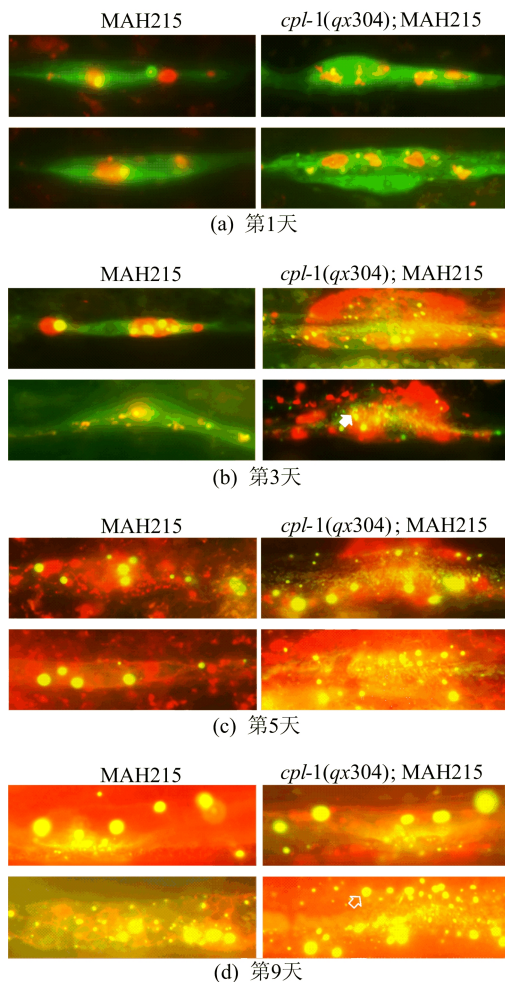


图 6 *cpl-1* 缺失的双荧光线虫显微成像图

为了确定 CPL-1 在线虫衰老过程中对自噬的调节作用,本文构建了 *cpl-1* 缺失的双荧光转基因线虫模型。从图 7 可以看出,*cpl-1* 突变进一步加剧了衰老过程中线虫体内自噬小体的积累,说明 CPL-1 在线虫衰老过程中能在一定程度上维持自噬水平和溶酶体功能。

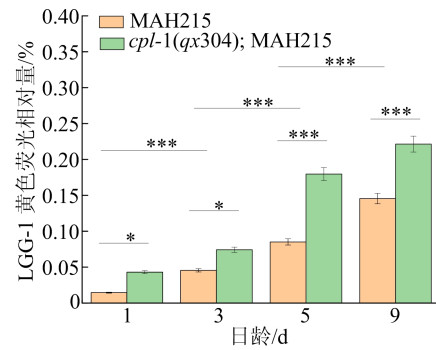


图 7 *cpl-1* 缺失的双荧光线虫显微成像定量结果

## 3 结 论

本研究在线虫中构建了 *cpl-1* 缺失突变体与 GFP 和 mCherry 双荧光共同标记的 LGG-1 转基因线虫杂交体,对双荧光转基因线虫的自噬小体含量变化进行研究,发现随着衰老的进程,自噬底物 LGG-1 黄色荧光增加,说明衰老引起自噬流受阻,*cpl-1* 缺失后自噬底物 LGG-1 黄色荧光强度进一步增加,表明 *cpl-1* 缺失会加速衰老。本研究为后续探索 CPL-1 的功能与寿命和各种神经退行性疾病之间的关系提供理论基础。

## [参 考 文 献]

- [1] ZHANG S, LI F, ZHO T, et al. *Caenorhabditis elegans* as a useful model for studying aging mutations[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2020, 11: 554994.
- [2] SHEN P, YUE Y, PARK Y. A living model for obesity and aging research; *Caenorhabditis elegans* [J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2018, 58(5): 741-754.
- [3] SUN Y, LI M, ZHAO D, et al. Lysosome activity is modulated by multiple longevity pathways and is important for lifespan extension in *C. elegans* [J]. *eLife*, 2020, 9: e55745.
- [4] VAN VEEN S, MARTIN S, VAN DEN HAUTE C, et al. ATP13A2 deficiency disrupts lysosomal polyamine export [J]. *Nature*, 2020, 578(7795): 419-424.
- [5] VRIJSEN S, BESORA-CASALS L, VAN VEEN S, et al. ATP13A2-mediated endo-lysosomal polyamine export counters mitochondrial oxidative stress [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2020, 117(49): 31198-31207.
- [6] NAKAMURA S, YOSHIMORI T. Autophagy and Longevity [J]. *Mol Cells*, 2018, 41(1): 65-72.
- [7] LEBOUTET R, LARGEAU C, MÜLLER L, et al. LGG-1/GABARAP lipidation is not required for autophagy and development in *Caenorhabditis elegans* [J]. *eLife*, 2023, 12: e85748.

(下转第 1677 页)

常感知 2 个方面均优于传统模型。其中,基于时空注意力机制的 STPFM 能够有效建模学生的跨区域迁移与时间周期性,在预测任务中能显著降低平均绝对误差,并在异常检测中提升  $F_1$  值,验证了其在捕捉长期行为规律与识别潜在风险方面的综合能力。

本研究为基于视频轨迹的学生行为分析提供了一套完整、可行的技术路径。未来的研究将进一步优化模型的泛化能力与实时性,探索与多模态感知数据(如 WiFi 信号、门禁记录、校园卡消费系统、教务学业数据等)的联合建模,以构建更完整、更完善的学生行为预测系统。

### [参 考 文 献]

- [1] 喻宏伟,周东波,徐雯慧,等. 基于多片段语义时空图卷积网络的大学校园日常行为预测[J]. 清华大学学报(自然科学版), 2022, 62(1): 105-115.
- [2] LAI G, CHANG W C, YANG Y, et al. Modeling long-and short-term temporal patterns with deep neural networks [C]//The 41st International ACM SIGIR Conference on Research and Development in Information Retrieval. Ann Arbor, MI: ACM, 2018: 95-104.
- [3] 江怡. 基于卷积神经网络的视频监控个体异常行为检测方法研究[D]. 西安:西安石油大学, 2025.
- [4] 申民哲. 基于数据挖掘的学生画像与学业预警方法研究[D]. 郑州:郑州轻工业大学, 2022.
- [5] 张晓东. 基于时空轨迹的学生异常情绪预警系统的设计与实现[D]. 西安:西安电子科技大学, 2024.
- [6] 徐邦琪, 臧钰歆, 朱志伟, 等. 时空投影模型(STPM)的次季节至季节(S2S)预测应用进展[J]. 大气科学学报, 2020, 43(1): 212-224.
- [7] 姚杰, 操星, 平红, 等. STMS: 一种基于时空注意力机制的行人轨迹预测模型[J/OL]. 云南民族大学学报(自然科学版), 2024; 1-11 [2024-07-10]. <https://link.cnki.net/urlid/53.1192.N.20240708.1101.002>.
- [8] 杨锐. 基于未来帧预测的视频异常检测方法研究[D]. 南京:南京邮电大学, 2023.
- [9] PALMISANO N J, ROSARIO N, WYSOCKI M, et al. The recycling endosome protein RAB-10 promotes autophagic flux and localization of the transmembrane protein ATG-9 [J]. *Autophagy*, 2017, 13(10): 1742-1753.
- [10] CHANG J T, KUMSTA C, HELLMAN A B, et al. Spatio-temporal regulation of autophagy during *Caenorhabditis elegans* aging [J]. *eLife*, 2017, 6: e18459.
- [11] BUTLER V J, GAO F, CORRALES C, et al. Age-and stress-associated *C. elegans* granulins impair lysosomal function and induce a compensatory HLH-30/TFEB transcriptional response [J]. *PLoS Genet*, 2019, 15(8): e1008295.
- [12] XU M, LIU Y, ZHAO L, et al. The lysosomal cathepsin protease CPL-1 plays a leading role in phagosomal degradation of apoptotic cells in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Mol Biol Cell*, 2014, 25(13): 2071-2083.
- [13] FUNKELSTEIN L, BEINFELD M, MNOKADEHL A, et al. Unique biological function of cathepsin L in secretory vesicles for biosynthesis of neuropeptides [J]. *Neuropeptides*, 2010, 44(6): 457-466.
- [14] YANG M, ZHANG Y, PAN J, et al. Cathepsin L activity controls adipogenesis and glucose tolerance [J]. *Nat Cell Biol*, 2007, 9(8): 970-977.
- [15] LIN Y, BAO B, YIN H, et al. Peripheral cathepsin L inhibition induces fat loss in *C. elegans* and mice through promoting central serotonin synthesis [J]. *BMC Biol*, 2019, 17(1): 93.
- [16] 陆芮, 刘健, 林燕. 溶酶体活性影响秀丽隐杆线虫脂肪沉积的作用 [J]. 合肥工业大学学报(自然科学版), 2023, 46(4): 541-546.
- [17] BRITTON C, MURRAY L. Cathepsin L protease (CPL-1) is essential for yolk processing during embryogenesis in *Caenorhabditis elegans* [J]. *J Cell Sci*, 2004, 117(Pt 21): 5133-5143.
- [18] 聂先奇, 鲍斌. 构建 *eat-2/cpl-1&Plgg-1gfp::lgg-1* 双突变体线虫 [J]. 合肥工业大学学报(自然科学版), 2019, 42(12): 1699-1703.

(责任编辑 闫杏丽)

### (上接第 1656 页)

- [9] PALMISANO N J, ROSARIO N, WYSOCKI M, et al. The recycling endosome protein RAB-10 promotes autophagic flux and localization of the transmembrane protein ATG-9 [J]. *Autophagy*, 2017, 13(10): 1742-1753.
- [10] CHANG J T, KUMSTA C, HELLMAN A B, et al. Spatio-temporal regulation of autophagy during *Caenorhabditis elegans* aging [J]. *eLife*, 2017, 6: e18459.
- [11] BUTLER V J, GAO F, CORRALES C, et al. Age-and stress-associated *C. elegans* granulins impair lysosomal function and induce a compensatory HLH-30/TFEB transcriptional response [J]. *PLoS Genet*, 2019, 15(8): e1008295.
- [12] XU M, LIU Y, ZHAO L, et al. The lysosomal cathepsin protease CPL-1 plays a leading role in phagosomal degradation of apoptotic cells in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Mol Biol Cell*, 2014, 25(13): 2071-2083.
- [13] FUNKELSTEIN L, BEINFELD M, MNOKADEHL A, et al. Unique biological function of cathepsin L in secretory vesicles for biosynthesis of neuropeptides [J]. *Neuropeptides*, 2010, 44(6): 457-466.
- [14] YANG M, ZHANG Y, PAN J, et al. Cathepsin L activity controls adipogenesis and glucose tolerance [J]. *Nat Cell Biol*, 2007, 9(8): 970-977.
- [15] LIN Y, BAO B, YIN H, et al. Peripheral cathepsin L inhibition induces fat loss in *C. elegans* and mice through promoting central serotonin synthesis [J]. *BMC Biol*, 2019, 17(1): 93.
- [16] 陆芮, 刘健, 林燕. 溶酶体活性影响秀丽隐杆线虫脂肪沉积的作用 [J]. 合肥工业大学学报(自然科学版), 2023, 46(4): 541-546.
- [17] BRITTON C, MURRAY L. Cathepsin L protease (CPL-1) is essential for yolk processing during embryogenesis in *Caenorhabditis elegans* [J]. *J Cell Sci*, 2004, 117(Pt 21): 5133-5143.
- [18] 聂先奇, 鲍斌. 构建 *eat-2/cpl-1&Plgg-1gfp::lgg-1* 双突变体线虫 [J]. 合肥工业大学学报(自然科学版), 2019, 42(12): 1699-1703.

(责任编辑 闫杏丽)