

# 胭脂鱼胰岛素样生长因子-I (IGF-I) cDNA 的分子克隆、序列分析及组织表达

郑凯迪<sup>①</sup> 陈小川<sup>①</sup> 李英文<sup>②\*</sup>

(<sup>①</sup>西南大学动物科学学院 重庆 400716; <sup>②</sup>重庆师范大学生命科学学院 重庆 400047)

**摘要:**参考多种生物的胰岛素样生长因子-I (IGF-I) 基因序列,设计并合成引物。用胭脂鱼 (*Myxocyprinus asiaticus*) 肝总 RNA 逆转录得到 cDNA 并扩增获得特异性片段,回收纯化后亚克隆到 pMD-18T 载体上。测序后经序列比对分析表明,所得到的序列是胭脂鱼胰岛素样生长因子-I (IGF-I) cDNA 片段,共 489 bp,包括该基因完整的开放阅读框(ORF)486 bp,编码 162 个氨基酸。氨基酸序列与其他鲤形目鱼类具有较高的同源性,对胭脂鱼 IGF-I 在一些组织中的表达研究发现,IGF-I 在肝中表达最多,其次是胰、性腺,在脑、垂体、鳃、心、脾中也有不同程度的表达,而在肠、肾、肌肉中的表达不十分明显。

**关键词:**胭脂鱼;IGF-I;cDNA 克隆;组织表达

中图分类号:Q955.Q78 文献标识码:A 文章编号:0250-3263(2007)02-39-07

## Molecular Cloning, Sequence Analysis and Tissue Expression of Insulin-like Growth Factor I in Chinese Sucker, *Myxocyprinus asiaticus*

ZHENG Kai-Di<sup>①</sup> CHEN Xiao-Chuan<sup>①</sup> LI Ying-Wen<sup>②\*</sup>

(<sup>①</sup> College of Animal Science and Technology, Southwest University, Chongqing 400716;

<sup>②</sup> School of Life Sciences, Chongqing Normal University, Chongqing 400047, China)

**Abstract:** The insulin-like growth factor I (IGF-I) cDNA was obtained from the Chinese Sucker (*Myxocyprinus asiaticus*) liver mRNA by RT-PCR using a set of primers designed according to IGF-I gene sequences of several other animals. The PCR products were inserted into the pMD-18T vector. It was demonstrated through sequencing that this fragment was IGF-I gene cDNA. It is 489 bp in length and contains one open reading frame (ORF) 486 bp, which encodes a polypeptide containing 162 amino acids. The amino acid sequence of Chinese Sucker IGF-I was high homologous to that of other cyprinid fishes. RT-PCR revealed that IGF-I was expressed in many tissues of Chinese Sucker. IGF-I was high expressed in liver, followed in pancreas and gonad, and slightly expressed in the brain, pituitary gland, gill, heart and spleen. There was no obvious expression in the intestine, kidney and muscle.

**Key words:** *Myxocyprinus asiaticus*; IGF-I; cDNA cloning; Tissue expression

胭脂鱼 (*Myxocyprinus asiaticus*), 隶属于硬骨鱼纲、鲤形目、胭脂鱼科、胭脂鱼属。其肉质细嫩,且具有很高的观赏价值。现在野生资源数量正在逐年减少,是国家二级保护动物。胭脂鱼类是一个由二倍体向四倍体过渡的鱼类,是研究鱼类起源进化和地理变迁的重要物种<sup>[1,2]</sup>。

胰岛素样生长因子家族 (insulin-like growth

factors, IGFs) 是一类在结构上与胰岛素原具有高度同源性的多肽,参与脊椎动物的生长发育

\* 通讯作者, E-mail: liyw@cqu.edu.cn;

第一作者介绍: 郑凯迪,女,硕士研究生,研究方向:水生生物生理生化, E-mail: zkaidi3000@yahoo.com.cn.

收稿日期: 2006-06-13, 修回日期: 2006-11-08

和生殖。IGF 系统包括 2 个配体(IGF- I , II )、2 个受体(IGF- I receptor , II receptor)和 6 个 IGF 结合蛋白(insulin-like growth factors binding protein , IGF-BPs)。IGF- I 具有广泛而重要的生物学作用,如调节细胞代谢,促进细胞生长、分化和分裂,抑制细胞死亡和调节渗透压等,在鱼类的生长和生殖生理中具有重要意义<sup>[3,4]</sup>。鱼类胰岛素样生长因子系统的研究起步较晚,1989 年 Cao 等<sup>[5]</sup>首次从鲑鱼克隆得到 IGF- I cDNA,自此一些鱼类的 IGF- I 基因得到研究,但是主要集中在鲑鳟鱼类、日本鳗鲡、鲤科和鲈形目等少数几个品种中<sup>[6]</sup>。本实验采用 RT-PCR 技术克隆了胭脂鱼 IGF- I 基因片段,并得到其编码的核苷酸序列,初步研究了 IGF- I 在胭脂鱼组织中的表达,期望能为胭脂鱼的深入研究提供基础理论依据。

## 1 材料与方法

**1.1 材料及主要试剂** 胭脂鱼购自重庆市渝中区棉花街观赏鱼市场,在清水中暂养 3 d 后用于实验。Tripure Reagent RNA 提取试剂盒购自上海华舜生物工程有限公司。pMD18-T 载体、DL2000、Taq DNA 聚合酶、M-MuLV 逆转录酶、DNase I (RNase free)、dNTP、琼脂糖、Tris 均购自大连 TaKaRa 生物工程有限公司。大肠杆菌 DH5 $\alpha$  为本实验室保存。

**1.2 引物设计与合成** 根据 NCBI 上公布的斑马鱼(*Danio rerio*, NM 131825)、鲮鱼(*Cirrhinus molitorella*, AY 069945)、团头鲂(*Megalobrama amblycephala*, AF 332865)以及草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*, AF 247658)的 IGF- I mRNA 序列,用 Primer 5.0 软件设计胭脂鱼 IGF- I 的上、下游引物 F1、F2、R1。根据 F1、R1 的测序结果,设计基因特异性引物 GSPF、GSPR 用于组织表达。同时,设计一对金鱼  $\beta$ -actin 引物 F、R 扩增保守的细胞骨架肌动蛋白作为组织内参。

**1.3 组织总 RNA 的提取** 快速分离胭脂鱼脑(brain, B)、垂体(pituitary, P)、鳃(gill, G)、心(heart, H)、脾(spleen, S)、肝(liver, L)、胰(pancreas, Pa)、肠(intestine, I)、性腺(gonad, Go)、

肾(kidney, K)、肌肉(muscle, M)各 25 mg 放入液氮中速冻,组织匀浆后按照 Tripure Reagent RNA 提取步骤进行操作,3% 甲醛变性琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 质量,并用紫外分光光度计测定 RNA 的 A<sub>260</sub>:A<sub>280</sub> 值和 RNA 浓度,然后保存于 -80℃ 冰箱中备用。

表 1 引物序列

Table 1 Primer names and sequences used in this study

引物名称 Primer names	引物序列 Primer sequences
IGF- I F1	5'-CATGTCTAGCGGACATTTCTTC-3'
IGF- I F2	5'-GTGTGTGGAGACAGGGGCTT-3'
IGF- I R1	5'-GCCTACAATGCGATAGTTTCTGCC-3'
GSPF	5'-GTGGCCGTTGGTGTGATGTCT-3'
GSPR	5'-ATAGTTTCTGCCCCCTGTGTT-3'
$\beta$ -actin F	5'-CCATCTCTGCTCGAAGTC-3'
$\beta$ -actin R	5'-CACTGTGCCCATCTACGAG-3'

## 1.4 IGF- I 基因克隆

**1.4.1 cDNA 第一条链的合成** 取 5  $\mu$ g 肝脏组织的总 RNA,以 M-MuLV 逆转录酶催化合成 cDNA,参照说明书操作。

**1.4.2 PCR 扩增** 以 1.4.1 节合成的 cDNA 为模板,用引物 F1、R1 进行第一轮 PCR 扩增,参数为:预变性 94℃,3 min;变性 94℃,30 s;退火 60℃,30 s;延伸 72℃,45 s;循环数 35;后延伸 72℃,10 min。再以第一轮扩增产物为模板,用引物 F2、R1 进行巢式 PCR 扩增,参数同上,扩增后用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 扩增产物。

**1.4.3 扩增片段的克隆和测序** 用少量胶回收试剂盒纯化目的片段,并将其连接到 pMD18-T 载体上,转化到大肠杆菌 DH5 $\alpha$  菌株中,经蓝白斑筛选,挑选白色单菌落,培养后用菌落 PCR 鉴定,挑选插入正确的阳性克隆抽提质粒后送上海英骏生物技术有限公司测序。

**1.5 IGF- I 的序列分析** 用 Clustal X 的 N-J method 进行序列对比并构建系统进化树,分析结果用 Clustal X 软件的 tree view 表示。其他脊椎动物的 IGF- I 氨基酸序列均从 GenBank 下载,序列号如下:斑点叉尾鲷(*Ictalurus punctatus*, Channel Catfish) AAQ56592;银鲑(*Oncorhynchus kisutch*, Coho Salmon) AAA49410;

鲤鱼 (*Cyprinus carpio*, Common Carp) BAA11879; 鲮鱼 (*Cirrhinus molitorella*, Mud Carp) AAY21902; 虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*, Rainbow Trout) AAA49412; 黑鲷 (*Acanthopagrus schlegelii*, Black Sea Bream) AAD01917; 斑马鱼 (*Danio rerio*, Zebrafish) AAA14263; 牙鲆 (*Paralichthys olivaceus*, Bastard Halibut) AAB94052; 斜带石斑鱼 (*Epinephelus coioides*, Orange-spotted Grouper) AAS01183; 大杜父鱼 (*Myoxocephalus scorpius*, Shorthorn Sculpin) CAA73162; 非洲爪蟾 (*Xenopus laevis*, African Clawed Frog) AAA70330; 鼠 (*Mus musculus*, House Mouse) AAH12409; 鸡 (*Gallus gallus*, Chicken) NP\_001004384; 人 (*Homo sapiens*, Human) CAA40342; IGF-II: 鼠 (*Mus musculus*, House Mouse) NP-034644。

1.6 IGF-I 组织表达

1.6.1 各组织的 cDNA 的第一条链的合成 用 DNase I (RNase free) 去除各组织总 RNA 中的基因组 DNA 污染。用去除基因组 DNA 的总 RNA 为模板进行 PCR 检测去除效果。取 5 μg 去除基因组 DNA 的各组织总 RNA 合成 cDNA 的第一条链,方法同 1.4.1 节。

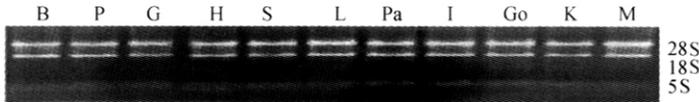


图1 胭脂鱼各组织总 RNA 的电泳图

Fig.1 Agarose gel electrophoresis of total RNA from tissues of Chinese Sucker

B:脑; P:垂体; G:鳃; H:心; S:脾; L:肝; S:肠; Go:生殖腺; K:肾; M:肌肉。

B:brain; P:pituitary; G:gill; H:heart; S:spleen; L:liver; I:intestine; Go:gonad; K:kidney; M:muscle.

2.2 IGF-I 基因片段的克隆和序列分析

胭脂鱼肝脏总 RNA 经过 RT-PCR 扩增,产物经琼脂糖凝胶电泳分析,第一轮扩增得到约 500 bp 的片段(图 2:a),第二轮扩增后得到约 300 bp 的片段(图 2:b),均与预期片段大小吻合,将第一轮扩增的 PCR 产物经亚克隆后测序,得到长度为 489 bp 的基因片段,在 NCBI 上 BLAST 分析后发现此基因片段与其他动物的 IGF-I 基因同源,判断出此序列是胭脂鱼 IGF-I 基因。其中包含 1 个完整的开放阅读框(open reading frame, ORF),编码由 162 个氨基酸残基组成的

1.6.2 IGF-I 在各组织中表达 通过循环次数递增的方法确定 IGF-I 和 β-actin 扩增的线性增长期,找到最适合的扩增循环数。取 2 μl 1.6.1 节中的各产物,用引物 GSPF、GSPR 进行 PCR 扩增反应,参数同 1.4.2 节,循环数 M。β-actin 扩增参数:预变性 94℃,3 min;变性 94℃,30 s,退火 55℃,30 s,延伸 72℃,45 s,循环数 N;后延伸 72℃,10 min。以 GSPF、GSPR 扩增测序后的质粒为模板作为阳性对照,以水作为阴性对照,扩增产物用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测,分析 IGF-I 在各组织中的表达。

2 结果与分析

2.1 胭脂鱼各组织总 RNA 的质量

总 RNA 经过 3% 甲醛变性琼脂糖凝胶电泳后条带清晰,28S 条带的亮度约是 18S 条带亮度的两倍以上,5S 条带较暗(图 1),说明在提取过程中, RNA 的降解较少。紫外分光光度计测定结果表明,所有组织样品 RNA 的 A<sub>260</sub>:A<sub>280</sub> 值均在 1.8~2.0 之间, RNA 的质量较好,能够满足进一步操作要求。

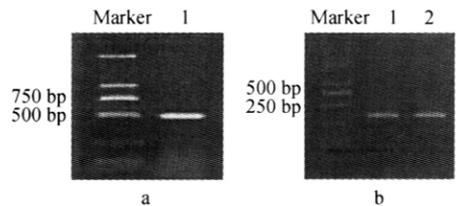


图2 胭脂鱼 IGF-I cDNA 扩增产物的琼脂糖凝胶电泳

Fig.2 Agarose gel electrophoresis of PCR products of IGF-I cDNA from Chinese Sucker

a 为第一轮扩增结果; b 为第二轮扩增结果。Marker:DL2000.

a is the result of first PCR; b is the result of nested PCR.

IGF- I 前蛋白(图 3)从 GenBank 上获得已经公布的 161 个部分脊椎动物 IGF-I 氨基酸序列,进行序列对比并构建系统进化树 结果如表 2、图 4、图 5。

Table with nucleotide and amino acid sequences for Chinese Sucker. The table shows 161 positions of DNA and corresponding amino acids (M, S, S, G, H, F, F, S, G, R, W, C, D, V, F, K, C, T, M, R, etc.).

图 3 胭脂鱼 IGF- I cDNA 序列及其编码的氨基酸序列

Fig.3 Nucleotide sequences and encoded amino acid sequences from IGF- I cDNA of Chinese Sucker

Multiple alignment analysis of IGF- I amino acid sequences. The table compares amino acid sequences across various species including Chinese sucker, zebrafish, mud carp, common carp, channel catfish, coho salmon, rainbow trout, bastard halibut, shorthorn sculpin, black bream, orange-spotted grouper, african clawed frog, chicken, mouse, and human. It shows conserved regions like 'MSSGHP' and 'VHOKNS'.

图 4 IGF- I 氨基酸序列对比分析

Fig.4 Multiple alignment analysis of IGF- I amino acid sequences

2.4 胭脂鱼 IGF- I 基因在组织中的分布 总 RNA 用 DNase I (RNase free)去除基因组 DNA 污染后,用上下游引物 GSPF、GSPR 进行 RT-

PCR, 将扩增产物进行琼脂糖凝胶电泳,没有得到 GSPF、GSPR 期望的条带,表明基因组 DNA 的干扰已被去除(图 6)。各组织的总 RNA 逆转

录得到的 cDNA 为模板,确定 IGF- I 和  $\beta$ -actin 扩增的最适循环数 M = 32 和 N = 28。组织分布结果表明,IGF- I 在胭脂鱼肝中表达最多,其次

为胰、性腺,在脑、垂体、鳃、心、脾中也有不同程度的表达,而在肠、肾、肌肉中则表达不明显(图 7)。

表 2 胭脂鱼 IGF- I 氨基酸与其他脊椎动物同源性比较(%)

Table 2 The homology comparison on IGF- I amino acid sequences between Chinese Sucker and other vertebrates

	鲤鱼 Common Carp	斑马鱼 Zebrafish	鲮鱼 Mud Carp	虹鳟 Rainbow Trout	斑点 叉尾鲷 Channel Catfish	银鲑 Coho Salmon	斜带 石斑鱼 Orange- spotted Grouper	黑鲷 Black Sea Bream	大杜 父鱼 Shorthorn Sculpin	牙鲆 Bastard Halibut	非洲 爪蟾 African Clawed Frog	鸡 Chicken	人 Human	鼠 Mouse
胭脂鱼 Chinese Sucker	94.4	93.2	91.4	79.0	78.1	77.8	73.5	71.0	69.8	61.1	66.0	64.7	60.8	59.4

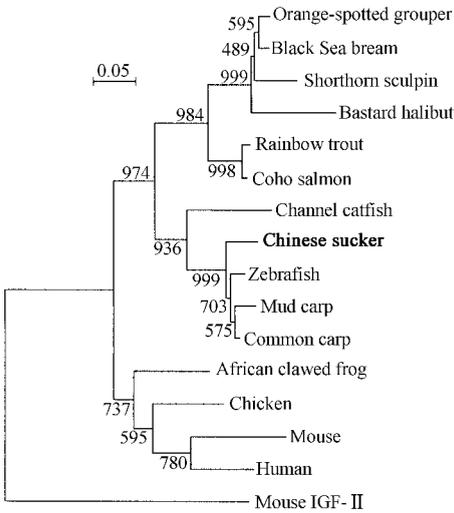


图 5 脊椎动物 IGF- I 进化分析

Fig. 5 Phylogenetic analysis of trypsin of vertebrates 相关序列从 GenBank 下载,序列号见方法与材料,图中的数字代表 1 000 个重复的 bootstrap 值,水平线代表遗传距离。The correlation sequences were downloaded from GenBank. For GenBank accession numbers refer to Materials and methods. Numbers indicate the bootstrap values from 1 000 replicates. The horizontal lines indicate genetic distances.

### 3 讨论

3.1 胭脂鱼 IGF- I 基因的同源性 本实验克隆得到的胭脂鱼 IGF- I cDNA 编码由 161 个氨基酸残基组成的 IGF- I 前蛋白,与鲤形目鱼类比较具有高度的同源性,如与鲤鱼、斑马鱼、鲮鱼的同源性分别为 94.4%、93.2%、91.4%;而与鲉形目、鲈形目、鲑形目、鲽形目、鲑形目鱼类比较相似性较低,如与大杜父鱼、斜带石斑鱼、黑鲷、虹鳟、银鲑、牙鲆、斑点叉尾鲷的同源性分别为 69.8%、73.5%、71.0%、79.0%、77.8%、61.1%、78.1%。而与两栖类、鸟类和哺乳类差异较大,与非洲爪蟾、鸡、鼠、人的同源性分别为 66.0%、64.7%、59.4%、60.8%(表 2)。

从构建的系统进化树(图 5)可以看出,鱼类的 IGF- I 基因与其他脊椎动物的明显分为两个大的分支。而在鱼类之间,分类地位相近的鱼类出现在同一分支,如鲤鱼、鲮鱼、斑马鱼等鲤科鱼类出现在同一分支,鲑形目、鲈形目等鱼类则分布在另一分支,与其形成姐妹群。胭脂

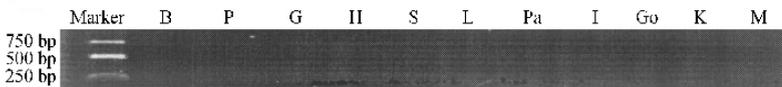


图 6 去基因组 DNA 的 RNA 为模板的 PCR 扩增产物的琼脂糖凝胶电泳分析

Fig. 6 Agarose gel electrophoresis of PCR products using RNA template eliminated genomic DNA

B 脑;P 垂体;G 鳃;H 心;S 脾;L 肝;S 肠;Go 生殖腺;K 肾;M 肌肉。(下同)

B :brain ; P :pituitary ; G :gill ; H :heart ; S :spleen ; L :liver ; I :intestine ; Go :gonad ; K :kidney ; M :muscle.( Following figure same )

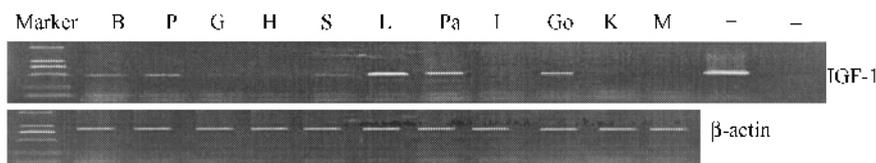


图7 胭脂鱼 IGF- I 的组织表达

Fig.7 IGF- I expression in various tissues of Chinese Sucker

+ 阳性对照 ; - 阴性对照 ,以  $\beta$ -actin 作为内参。+ and - as positive and negative controls ;  $\beta$ -actin as an internal control.

鱼与鲤科鱼类在同一分支。将所克隆的胭脂鱼 IGF- I cDNA 预测编码的氨基酸和其他脊椎动物的氨基酸序列进行比对后发现(图4),与其他四足动物相比,鱼类之间 IGF- I 同源性很高,这也与传统的脊椎动物分类地位相一致。

**3.2 胭脂鱼 IGF- I 基因的组织表达** 从本研究的结果中可以看到 IGF- I 在胭脂鱼肝中的表达量最多,这是因为 IGF- I 绝大部分由肝合成<sup>[7]</sup>,但是局部组织细胞,如性腺、骨髓、脑及多种肿瘤细胞也可以产生和分泌<sup>[8]</sup>。所以 IGF- I 在胰、性腺、脑、垂体、脾、腮,心中也有不同程度的表达,这与报道过的其他鱼类的研究结果是一致的。Reinecke 等<sup>[9]</sup>的研究发现,莫桑比克罗非鱼(*Oreochromis mossambicus*)肝、胰腺、胃、小肠、大肠、肾、鳃、生殖腺、脑、心和眼等组织中都有 IGF- I 的表达。还有研究表明,在大麻哈鱼(*Sparus aurata*)的脂肪中也有 IGF- I 的表达<sup>[10]</sup>。Otteson 等<sup>[11]</sup>在金鱼(*Carassius auratus*)的视网膜中也检测到了 IGF- I 的表达,而且表达量相对较高。胭脂鱼 IGF- I 在肠、肾、肌肉中的表达不是十分明显,出现这种情况有很多原因,一方面可能是个体差异所致,另一方面就是 IGF- I 受诸多表达调控因子的调控所致,不仅如此,IGF- I 的表达还受营养状况、激素水平和生长环境等因素的调节。如有学者<sup>[12,13]</sup>通过饥饿实验研究了营养对鱼类 IGF- I mRNA 表达水平的影响,发现禁食或能量不足都会导致血清和肝组织 IGF- I mRNA 表达水平下降。本研究中所用的鱼曾在清水中暂养,由于饥饿可能使 IGF- I mRNA 的表达量受到影响,直接导致一些组织中的低丰度表达。除了饥饿外,还有很多外部因素和内部因素对 IGF- I 的表达会

产生影响。大量证据表明 GH 能显著促进肝和血清中的 IGF- I mRNA 表达,且呈剂量依赖性反应,IGF- I 则反过来负反馈调节 GH 的分泌<sup>[14]</sup>。而在肝以外组织中,IGF- I 对于 GH 则有不同的反应:一些研究显示 GH 对于脑、肾、肠、鳃等组织中的 IGF- I 有促进作用<sup>[15]</sup>,而另外一些报道又认为 GH 对于心、脂肪、脑、脾、垂体等组织中的 IGF- I 没有任何影响或有抑制作用<sup>[16]</sup>。同时又有研究表明,胰岛素在 GH 刺激 IGF- I 表达的过程中也起到协同作用<sup>[17]</sup>。除 GH 和胰岛素外,谷氨酸、糖皮质激素<sup>[18]</sup>、甲状腺激素<sup>[19]</sup>对 IGF- I 的表达也有一定的调节作用。温度、盐度、渗透压等环境因子的改变也会影响鱼类 IGF- I 的表达。盐度对 IGF- I 表达的影响可能与 IGF- I 参与渗透压调节有关,在等渗溶液中肝 IGF- I 的表达水平最高<sup>[20]</sup>。这种调节作用可能与 IGF- I 的内分泌以及 IGF- I 在体内的清除率有关,当鱼类开始经历环境胁迫时,体内 IGF- I 水平显著下降,必须经过一段时间后才能逐渐恢复到原有水平<sup>[21]</sup>。还有研究发现,温度对 IGF- I 的表达水平也会造成一定的影响<sup>[22]</sup>。这些因素的综合作用,对 IGF- I 的表达就产生了复杂的影响。

自然条件下,胭脂鱼一般 5~6 龄进入生殖年龄,性成熟较迟,繁殖周期较长。目前环境污染日益严重,资源受到严重破坏,数量明显下降,且在短期内很难自然恢复。众所周知,生长和生殖是生物体最基本的现象,而 IGF 又与生长和生殖密切相关,这意味着将 IGF 的研究成果用于动物保护研究非常重要。然而到目前为止,动物的生长和生殖是如何受 GH-GHR-IGF 轴的调节,GH、GHR 是如何与 IGF 家族成员在

生物体内共同作用,某些环节仍不十分清楚。因此,如何从 IGF 的角度认识鱼类的生长发育和生殖规律,是一个有意义的课题。

## 参 考 文 献

- [ 1 ] Li S S , Wang R F , Liu G Z . A karyotypical study of *Myxocyprinus asiaticus* ( Bleeker ). *Zoological Research* ,1983 , **4** ( 2 ) :182 ~ 183 .
- [ 2 ] Xiong Q W , Xia S L . A study of isozymes in *Myxocyprinus asiaticus* ( Bleeker ). *Acta Zoologica Sinica* ,1985 **31** ( 1 ) :20 ~ 27 .
- [ 3 ] Jones J R , Clemmons D R . Insulin-like growth factors and their binding proteins biological actions . *Endocr Rev* ,1995 **16** :3 ~ 34 .
- [ 4 ] Zee U , Catherine A Y , Degger B G , et al . Evolution of insulin-like growth factor- I ( IGF- I ) action :in vitro characterization of vertebrate IGF- I proteins . *Comparative Biochemistry and Physiology Part B* ,1998 **121** :35 ~ 41 .
- [ 5 ] Cao Q P , Duguay S J , Plisetskaya E , et al . Nucleotide sequence and growth hormone-regulated expression of salmon insulin-like growth factor- I mRNA . *Mol Endocrinol* ,1989 **3** :2 006 ~ 2 010 .
- [ 6 ] Reincke M , Collet C . The phylogeny of the insulin-like growth factors . *Int Rev Cytol* ,1998 **183** :1 ~ 94 .
- [ 7 ] Sjögren K , Jun L L , Blad K , et al . Liver-derived insulin-like growth factor I ( IGF- I ) is the principal source of IGF- I in blood but is not required for postnatal body growth in mice . *Physiology* ,1999 **96** ( 12 ) :7 088 ~ 7 092 .
- [ 8 ] Berishvili G . D , Cotta H , Baroiller J F , et al . Differential expression of IGF- I mRNA and peptide in the male and female gonad during early development of a bony fish , the tilapia ( *Oreochromis niloticus* ) . *Gen Comp Endocrinol* ,2006 , **146** ( 3 ) :204 ~ 210 .
- [ 9 ] Reinecke M , Schmid A , Ernatinger R , et al . Insulin-like growth factor- I gene in the teleost tilapia ( *Oreochromis mossambicus* ) :gene sequence , tissue expression and cellular localization . *Endocrinology* ,1997 **138** :3 613 ~ 3 619 .
- [ 10 ] Duguay S J , Lai Z J , Steiner D F , et al . Development and tissue-regulated expression of IGF- I and IGF- II mRNAs in *Sparus aurata* . *Mol Endocrinol* ,1996 **16** :123 ~ 132 .
- [ 11 ] Otteson D C , Cirenza P F , Hitchcock P F . Persistent neurogenesis in the teleost retina :evidence for regulation by the growth-hormone/insulin-like growth factor- I axis . *Mechanisms of Development* ,2002 **117** :137 ~ 149 .
- [ 12 ] Pierce A L , Shimizu M , Beckman B R , et al . Time course of the GH/IGF axis response to fasting and increased ration in chinook salmon ( *Oncorhynchus tshawytscha* ) . *Gen Comp Endocrinol* ,2005 **140** ( 3 ) :192 ~ 202 .
- [ 13 ] 华益民 ,林浩然 . 营养状况对幼年鲤鱼肝脏 IGF-I mRNA 表达的影响 . *动物学报* ,2001 **47** ( 1 ) :94 ~ 100 .
- [ 14 ] Wood A W , Duan C , Bern H A . Insulin-like growth factor signaling in fish . *International Review of Cytology* ,2005 **243** :215 ~ 285 .
- [ 15 ] Castillo J , Codina M , Martinez M L , et al . Metabolic and mitogenic effects of IGF- I and insulin on muscle cells of rainbow trout . *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* ,2004 , **286** ( 5 ) :935 ~ 941 .
- [ 16 ] Fruchtmann S , Jackson L , Borski R . Insulin-like growth factor I disparately regulates prolactin and growth hormone synthesis and secretion :studies using the teleost pituitary model . *Endocrinology* ,2000 **141** ( 8 ) :2 886 ~ 2 894 .
- [ 17 ] Castillo J , Ammendrup J I , Codina M , et al . IGF- I and insulin receptor signal transduction in trout muscle cells . *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* ,2006 **290** ( 6 ) :1 683 ~ 1 690 .
- [ 18 ] Pierce A L , Fukada H , Dickhoff W W . Metabolic hormones modulate the effect of growth hormone ( GH ) on insulin-like growth factor- I ( IGF- I ) mRNA level in primary culture of salmon hepatocytes . *Journal of Endocrinology* ,2005 **184** :341 ~ 349 .
- [ 19 ] Schmid A C , Lutz I , Kloas W , et al . Thyroid hormone stimulates hepatic IGF- I mRNA expression in a bony fish the tilapia *Oreochromis mossambicus* , in vitro and in vivo . *Gen Comp Endocrinol* ,2003 **130** ( 2 ) :129 ~ 134 .
- [ 20 ] Deane E E , Kelly S P , Luk J C , et al . Chronic salinity adaptation modulates hepatic heat shock protein and insulin-like growth factor I expression in black sea bream . *Mar Biotechnol* ( NY ) ,2002 **4** ( 2 ) :193 ~ 205 .
- [ 21 ] Dyer A R , Upton Z , Stone D , et al . Development and validation of a radioimmunoassay for fish insulin-like growth factor I ( IGF- I ) and the effect of aquaculture related stressors on circulating IGF-I levels . *Gen Comp Endocrinol* ,2004 **135** ( 3 ) :268 ~ 275 .
- [ 22 ] Gabillard J C , Resran P Y , Faucombeau B , et al . Effect of temperature on gene expression of the GH/IGF system during embryonic development in rainbow trout ( *Oncorhynchus mykiss* ) . *J Exp Zoology Part A , Comp Exp Biol* ,2003 **298** ( 2 ) :134 ~ 142 .