

岩原鲤促性腺激素基因的克隆和组织表达差异

章海滨^① 王爽^① 张修月^① 宋昭彬^{①②*}

^① 四川大学生命科学学院 四川省濒危野生动物保护生物学重点实验室 成都 610065;

^② 生物资源与生态环境教育部重点实验室 成都 610065

摘要: 通过 RT-PCR 技术从岩原鲤 (*Procypris rabaudi*) 卵巢组织中克隆了促性腺激素 GtH α 、FSH β 、LH β 3 个亚基的 mRNA 序列。GtH α 亚基开放阅读框长 357 bp, 编码 118 个氨基酸残基, 第 1~23 个氨基酸为信号肽。FSH β 亚基开放阅读框长 393 bp, 编码 130 个氨基酸残基, 第 1~22 个氨基酸为信号肽。LH β 亚基开放阅读框长 444 bp, 编码 147 个氨基酸残基, 第 1~28 个氨基酸为信号肽。氨基酸序列比对结果表明, GtH α 亚基在近缘物种间比较保守, 其氨基酸序列的相似性要高于 FSH β 和 LH β 亚基。通过 Real-time fluorescent quantitative PCR (FQ-PCR) 分析发现, GtH α 亚基在检测的 6 种组织中均有表达, 卵巢中的表达量极高, 肝、脑、心、垂体和肌肉中表达量依次降低; FSH β 亚基在除肌肉外的其余 5 种组织中均有表达, 卵巢中的表达量最高, 脑和心中表达量次之, 肝和垂体的表达量明显偏低; LH β 亚基只在卵巢和垂体中表达, 卵巢中的表达量要明显高于垂体。

关键词: 促性腺激素基因; cDNA 克隆; 序列分析; 基因表达; 岩原鲤

中图分类号: Q786 文献标识码: A 文章编号: 0250-3263(2013)01-01-07

Cloning and Gene Expression of cDNA for the Gonadotropin Hormone in Rock Carp (*Procypris rabaudi*)

ZHANG Hai-Bin WANG Shuang^① ZHANG Xiu-Yue^① SONG Zhao-Bin^{①②*}

^①Sichuan Key Laboratory of Conservation Biology on Endangered Wildlife, College of Life Sciences, Sichuan University, Chengdu 610065; ^②Key Laboratory of Bio-Resources and Eco-Environment of Ministry of Education, Chengdu 610065, China

Abstract: The gonadotropin (GtH) subunit GtH α , FSH β and LH β cDNAs were cloned from ovary of rock carp (*Procypris rabaudi*) through RT-PCR. The nucleotide sequences of GtH α , FSH β and LH β are 357, 393 and 444 base pairs (bp) in length, respectively. The open reading frame (ORF) of GtH α encodes 118 amino acid residues of peptide, and the first 23 amino acids comprise a signal peptide. The ORF of FSH β encodes 130 amino acid residues of peptide, and the first 22 amino acids comprise a signal peptide. The ORF of LH β encodes 147 amino acid residues of peptide, and the first 28 amino acids comprise a signal peptide. Sequence similarity of GtH α subunit between rock carp and other fish species or vertebrates are much higher than that of FSH β and LH β subunits, showing that GtH α subunit is more conservative than FSH β and LH β subunits. Expression analysis by real-time fluorescent quantitative PCR (FQ-PCR) revealed that GtH α was ubiquitously expressed in all six tissues examined; the highest level of GtH α transcript was detected in ovary; the expression

基金项目 国家自然科学基金项目 (No. 30670290), 教育部新世纪优秀人才支持计划项目 (No. NCET-11-0347);

* 通讯作者, E-mail: zhsong@scu.edu.cn;

第一作者介绍 章海滨, 男, 硕士研究生; 研究方向: 动物分子生物学; E-mail: nature66@126.com。

收稿日期: 2012-07-11, 修回日期: 2012-10-22

levels in liver, brain, heart, pituitary and muscle descended in order. FSH β was expressed in all tissues except for muscle; the FSH β mRNA was abundantly expressed in ovary, to a lesser extent in brain and heart, at low level in liver and pituitary. LH β was only expressed in ovary and pituitary, and the expression in ovary was significantly higher than that in pituitary.

Key words: Gonadotropin hormone; cDNA cloning; Sequence analysis; Gene expression; *Procypris rabaudi*

促性腺激素 (gonadotropin hormone, GtH) 是由脊椎动物脑垂体前叶细胞合成与分泌的一类糖蛋白激素,其主要作用是促进生殖细胞的生长、发育、成熟、排精及排卵等。促性腺激素对生殖系统的发育和成熟有着重要的调节作用 (Parhar et al. 2003)。在哺乳动物中促性腺激素有 2 种,即促滤泡激素 (follicular stimulating hormone, FSH) 和促黄体生成素 (luteinizing hormone, LH)。鱼类的促性腺激素也有 2 种,即 GtH I 和 GtH II,分别对应于哺乳动物的促滤泡激素和促黄体生成素 (Li et al. 1998)。这 2 种激素都由 2 个亚基组成,分别为 α 亚基和 β 亚基。鱼类的 GtH α 亚基具有高度同源性,同种鱼类的 2 个 GtH 的 α 亚基是相同的,但 GtH I 和 GtH II 的 β 亚基同源性相对较低,具有特异性,该激素的种间特异性主要通过 β 亚基表现出来;由于鱼类的 GtH I 和 GtH II 同其他动物的 FSH 和 LH 相对应,因此, GtH I β 亚基和 GtH II β 亚基也可分别表示为 FSH β 亚基和 LH β 亚基 (Pierce et al. 1981, Sohn et al. 1998, Vischer et al. 2003)。

岩原鲤 (*Procypris rabaudi*) 属鲤形目 (Cypriniformes) 鲤科 (Cyprinidae) 鲤亚科 (Cyprininae) 原鲤属,分布于长江上游的干、支流,是我国特有的一种名贵经济鱼类,由于受过度捕捞、修筑闸坝和水质污染等人为因素的影响,其野生种群数量正趋于减少,因此,有必要组织开展驯养繁殖试验,培育苗种以作江河、水库的放流和放养,促进资源恢复 (乐佩琦等 1998)。近几年来岩原鲤的人工繁殖虽取得了很大的成功,但也出现了一些问题,如受精率、孵化率不高,并且在苗种培育过程中其鱼苗成活率不高,尤其畸形率较高 (庾云 2007)。有研究表明,使用混合的外源激素能使亲鱼最终达

到性成熟 (排卵或排精),但是要想获得比较高的受精率和苗种培育成活率,抓好亲鱼培育是关键 (周亮等 2002)。促性腺激素对鱼类性腺发育及排卵排精起重要调控作用,因此,我们克隆了促性腺激素 3 个亚基的 cDNA 序列,并对其进行了序列分析和组织表达研究,以期为岩原鲤性腺发育的分子机理研究和亲鱼培育提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 样本采集与处理 实验用 2~3 龄岩原鲤于 2009 年 9 月采自四川省水产研究所渔场,取脑、垂体、卵巢、肝、心和肌肉组织迅速放入液氮保存备用。

1.2 RNA 提取及 cDNA 第一链合成 利用 RNAiso Plus 总 RNA 提取试剂盒 (TaKaRa, 大连) 提取垂体、卵巢、心、肝、脑和肌肉 6 种组织的总 RNA。采用反转录试剂盒 EasyScript First-Strand cDNA Synthesis SuperMix (Transgene, 北京) 将总 RNA 反转录成 cDNA,反转录反应体系为:模板总 RNA (5~500 ng) 6 μ l, Oligo (dT)₁₈ (0.5 g/L) 1 μ l,反转录超混液 10 μ l,反转录酶和 RNA 酶抑制剂超混液 1 μ l, DEPC 水 2 μ l。在 42 $^{\circ}$ C 下孵育 30 min, 85 $^{\circ}$ C 加热 5 min 使反转录酶失活。所得 cDNA 于 -20 $^{\circ}$ C 保存。

1.3 引物的设计 根据 GenBank 中已报道鱼类的促性腺激素基因 mRNA 序列开放阅读框 (open reading frame, ORF) 的保守区设计引物 (表 1),由上海英潍捷基生物技术公司合成。

1.4 GtH 3 个亚基 cDNA 序列的克隆 以卵巢第一链 cDNA 为模板,采用以上扩增 3 亚基 cDNA 引物进行 RT-PCR (reverse transcription polymerase chain reaction) 扩增。反应体系为: 10 \times PCR Buffer 2.5 μ l, Mg²⁺ 2.0 μ l, dNTP (10

表 1 扩增 GtH 亚基 cDNA 序列及 GtH 亚基和 β -actin FQ-PCR 引物Table 1 Primers used for cloning GtH subunits cDNA and FQ-PCR primers for GtH subunits and β -actin

基因 Gene	引物 Primer	序列(5'-3') Sequence	退火温度(°C) Melting temperature
<i>GtHα</i>	GtH α -FQ-F	AGTGTATGGGATGCTGTTTTTCTA	59
	GtH α -FQ-R	AGTGGCAGTCTGTGTGTTCA	
<i>FSHβ</i>	FSH β -FQ-F	ATFGACACCACTGCCTGTGC	59
	FSH β -FQ-R	CTGGGTAAGTGAAAACGGAGTC	
<i>LHβ</i>	LH β -FQ-F	ACTGCCTGACAAAGGAGCC	59
	LH β -FQ-R	CGGACGGTCTCCTAGCC	
β -actin	β -actin-F	TCACACCTTCTACAACGAGCTGCGT	59
	β -actin-R	AGGCATACAGGACAGCACA	
<i>GtHα</i>	GtH α -F	ATGTTTTGGACAAGATATGC	58
	GtH α -R	TTAAGACTTATGATAGTAGCAG	
<i>FSHβ</i>	FSH β -F	AGATGAGGATGCACCTTCGTT	55
	FSH β -R	GTGTTTGTTTCTTGTCTAAT	
<i>LHβ</i>	LH β -F	ATGGGGACACCTGTCAAGAT	56
	LH β -R	GGGCTACTATACAAGGAAATCC	

mmol/L) 0.5 μ l, 引物 F/R (25 μ mol/L) 0.5 μ l, 第一链 cDNA 0.7 μ l, *Taq* 酶(5 U/ μ l) 0.5 μ l, ddH₂O 补足至 20 μ l。PCR 扩增程序为: 95°C 5 min; 94°C 30 s, 56°C 40 s, 72°C 50 s, 35 个循环; 72°C 10 min。RT-PCR 产物经电泳检测、回收、连接、转化后, 挑单克隆测序, 获得 GtH α 、FSH β 、LH β 3 个亚基的 cDNA 序列。

1.5 GtH 3 个亚基序列同源性分析 从 GenBank 中下载已知鱼类及其他脊椎动物的 GtH α 、FSH β 、LH β 亚基氨基酸序列, 利用软件 DNAMAN Version 6 进行氨基酸同源性比对。

1.6 氨基酸序列的理化性质分析 采用蛋白分析软件 ANTHEPROT 5.0 对 GtH 3 个亚基氨基酸序列的理化特性进行分析。

1.7 GtH 3 个亚基的组织表达差异检测 采用 FQ-PCR 方法检测 3 个亚基的 mRNA 在组织中的表达差异, 实验使用 Bio-Rad iQ5 Real Time PCR 系统完成。

1.7.1 FQ-PCR 的引物设计 根据已获得的 GtH α 、FSH β 、LH β 亚基开放阅读框序列, 分别设计其 FQ-PCR 特异性引物(表 1)。同时, 根据鲤鱼 (*Cyprinus carpio*) 的 β -actin 序列 (GenBank 号: M24113), 设计引物 β -actin-F/R (表 1) 来扩增细胞骨架肌动蛋白, 作为 FQ-PCR 反应中的内参基因。

1.7.2 FQ-PCR 反应 以岩原鲤的垂体、卵巢、心、脑、肝和肌肉 6 种组织第一链 cDNA 为模板, 利用 RT-PCR 扩增 β -actin 基因, 以检测反转录是否成功。同时, 采用 FQ-PCR 引物进行 RT-PCR 扩增岩原鲤 GtH 3 个亚基, 并设置水模板对照组, 以检测其在各组织中是否表达。

在 6 种组织中通过 FQ-PCR 方法检测岩原鲤 GtH 3 个亚基 mRNA 是否表达及组织表达差异, 每个组织的每个亚基和内参基因均设置 3 个平行样进行 FQ-PCR, 同时设置水模板对照和肌肉或心组织的内参引物扩增对照, 以排除实验误差并验证仪器是否运转正常。FQ-PCR 反应体系为: cDNA 0.3 μ l, SYBR Premix Ex *Taq* II (2 \times) 12.5 μ l, 引物 F/R (25 pmol/ μ l) 0.3 μ l, ddH₂O 补足至 25 μ l。反应程序为: 95°C 30 s; 95°C 5 s, 59°C 30 s, 72°C 30 s, 40 个循环; 72°C 10 min。融解曲线参数为: 65°C ~ 95°C, 每 10s 上升 0.5°C。将 FQ-PCR 产物进行电泳检测, 以确认荧光信号是由于有特异的 cDNA 转录本产生的。在 FQ-PCR 结果和电泳检测结果相同的前提下, 从 Bio-Rad iQ5 中记录该原始数据, 使用 GraphPad Prism 5 软件按照荧光定量方法中的 Δ Ct 方法进行相对定量分析。3 个亚基 mRNA 与 β -actin 基因 mRNA 的相对表达量以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 来表示, 以确定其各自的相对表达水

平(Livak et al. 2001), 建立柱状图。

2 结果与分析

2.1 岩原鲤 GtH 3 个亚基的克隆 经转菌测序得到 3 个 cDNA 序列, 与近缘物种比对后确认所扩增序列均为岩原鲤促性腺激素 3 亚基序列, 并找出各个亚基的开放阅读框序列。GtH α 亚基的完整开放阅读框全长 357 bp, 编码 118 个氨基酸(GenBank 登录号: JX105891)。FSH β 亚基的完整开放阅读框全长 393 bp, 编码 130 个氨基酸(GenBank 登录号: JX105892)。LH β 亚基的完整开放阅读框全长 444 bp, 编码 147 个氨基酸(GenBank 登录号: JX105893)。

2.2 岩原鲤 GtH 3 个亚基氨基酸序列的同源性比较 岩原鲤的 GtH α 亚基同鲤、草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)、鳊(*Aristichthys nobilis*)和鲫(*Carassius auratus*)只有 3~4 个氨基酸残基的差异, 其同源性分别为 96.6%、96.6%、95.8% 和 97.2%; 与其他鱼类的同源性为 61.9%~86.1%; 与其他脊椎动物的同源性为 59.6%~71.6%(表 2)。GtH α 亚基在近缘物种间比较保守。FSH β 亚基氨基酸序列与鲤、鲫、草鱼、青鱼(*Mylopharungodon piceus*)和鳊的同源性为 93.1%、91.5%、86.9%、86.2%

和 86.2%; 与其他鱼类的同源性为 47.2%~79.9%; 与乌龟(*Chinemys reevesii*)的同源性仅为 40.0%(表 2)。可见岩原鲤 FSH β 亚基氨基酸序列同其他鱼类的同源性没有 GtH α 亚基的高。岩原鲤 LH β 亚基的氨基酸序列同其他几种近缘鱼类的同源性为 88.6%~92.5%, 同 FSH β 亚基氨基酸的同源性大致相当; 与其他几种鱼类的同源性在 72.2%~79.9% 之间; 同其他脊椎动物的同源性在 41.4%~52.3% 之间(表 2); 氨基酸变化范围比 GtH α 亚基变化范围大, 显示 LH β 亚基也没有 GtH α 亚基序列保守。3 个亚基中, GtH α 亚基在鱼类中相对比较保守。

2.3 岩原鲤 GtH 3 个亚基氨基酸理化特性 岩原鲤 GtH α 亚基蛋白的分子量为 13.5 ku, 等电点为 8.955; FSH β 亚基蛋白的分子量为 14.5 ku, 等电点为 4.845; LH β 亚基蛋白的分子量为 15.8 ku, 等电点为 4.665。GtH α 亚基肽链的切割位点位于第 22~26 位氨基酸残基之间, 在第 23 个氨基酸残基(亮氨酸残基)处有最强切割位点, 第 1~23 个氨基酸为信号肽。FSH β 亚基肽链的切割位点位于第 17~23 位氨基酸残基之间, 其最强切割位点有 3 处, 分别是第 18 位的丙氨酸、20 位的丝氨酸和 22 位的半胱氨

表 2 岩原鲤 GtH 亚基氨基酸序列同源性分析

Table 2 Similarity of amino acid sequences of GtH subunits between rock carp and other species

物种名 Species	GenBank 登录号 GenBank accession number			同源性 Homology (%)		
	GtH α	FSH β	LH β	GtH α	FSH β	LH β
鲤 <i>Cyprinus carpio</i>	M37379	AB003583	X59889	96.6	93.1	92.1
鲫 <i>Carassius auratus</i>	D86551	D88023	D88024	97.2	91.5	91.4
斑马鱼 <i>Danio rerio</i>	AY424306	NM_205624	AY424304	80.3	66.9	79.9
草鱼 <i>Ctenopharyngodon idellus</i>	EU095936	EF552329	EF552329	96.6	86.9	88.6
大麻哈鱼 <i>Oncorhynchus keta</i>	M27152	M27153	M27154	61.9	47.2	72.2
鳊 <i>Aristichthys nobilis</i>	EU09593	EF552360	EF565164	95.8	86.2	88.6
青鱼 <i>Mylopharungodon piceus</i>	N/A	AF319961	AF319960	N/A	86.2	92.5
革胡子鲶 <i>Clarias gariepinus</i>	X97760	AF324541	X97761	86.1	67.7	76.7
日本鳗鲡 <i>Anguilla japonica</i>	AB175834	AB016169	AY082379	69.8	52.4	72.2
乌龟 <i>Chinemys reevesii</i>	AB085199	AB085201	AB085202	51.1	40.0	52.3
鹌鹑 <i>Coturnix coturnix</i>	S70833	AB086952	S70834	62.7	N/A	41.4
人 <i>Homo sapiens</i>	NM_00073	NM_00451	NM_000894	59.6	N/A	43.2

表中“N/A”表示物种的该亚基序列未报道, 在本实验同源性分析中分析值为缺失。

The “N/A” indicates the subunit sequences of the species are not reported and absent in our homology analysis.

酸,第1~22个氨基酸为信号肽。LH β 亚基肽链的切割位点位于第25~31个氨基酸残基之间,最强的切割位点在第28个氨基酸残基(丙氨酸),第1~28个氨基酸为信号肽。

2.4 岩原鲤 GtH 3 个亚基在 6 种组织中的表达 RT-PCR 反应后电泳检测结果与 FQ-PCR 反应后呈现出的数据、融解曲线及电泳检测结果完全一致,显示 GtH α 亚基在所测的 6 种组织中均有表达,FSH β 亚基在除肌肉外的其余 5 种组织中均有表达,LH β 亚基只在卵巢和垂体中表达,水模板均未扩增出条带或无 FQ-PCR 数据。FQ-PCR 数据分析结果显示,GtH α 亚基在卵巢中的表达量极高,肝、脑、心、垂体和肌肉

中的表达量依次降低;FSH β 亚基在卵巢中的表达量最高,脑和心次之,肝和垂体中的表达量明显偏低;LH β 亚基只在卵巢和垂体中表达,卵巢中的表达量要明显高于垂体中(图 1)。

3 讨论

3.1 岩原鲤 GtH 3 个亚基 cDNA 保守性 氨基酸序列的同源性比对结果表明,GtH α 、FSH β 和 LH β 3 个亚基的氨基酸序列同鲤、青鱼、草鱼、鲫和斑马鱼等鲤科鱼类的同源性很高,与鸟类和哺乳类动物的同源性较低。GtH α 亚基在 3 个亚基中保守性最高;FSH β 与其他鱼类及脊椎动物相比,其氨基酸序列变异较大,保守性较

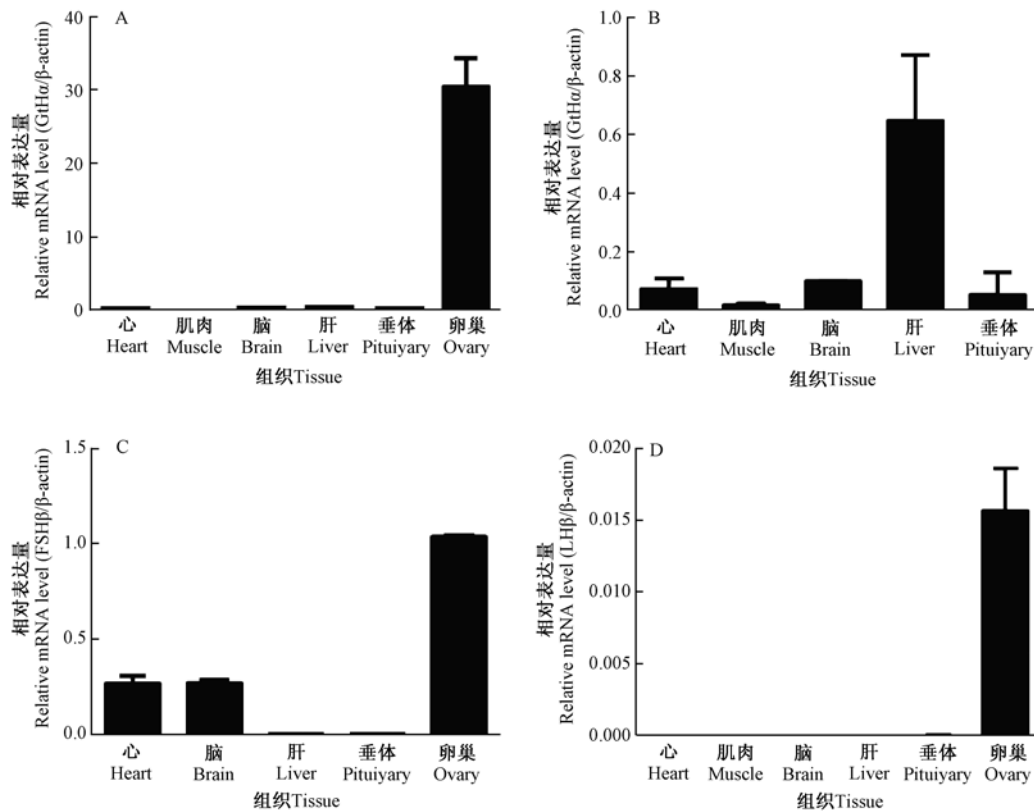


图 1 GtH α 、FSH β 和 LH β 3 个亚基在各组织中的相对表达量

Fig. 1 The relative mRNA expression levels of GtH α , FSH β and LH β in different tissues

A、C、D 分别为 GtH α 、FSH β 和 LH β 亚基在各组织中的相对表达量;B 为 GtH α 亚基在除卵巢外其他组织中的相对表达量。

A, C, D: The relative expression levels of GtH α , FSH β , and LH β in various tissues; B: The relative expression levels of GtH α in the tissues excluding ovary.

低;而 LH β 相对于 FSH β 保守性较高,居第二位,这与其他物种的研究结果一致 (Pierce 1981, Sohn et al. 1998, Vischer et al. 2003)。GtH α 亚基在进化中的保守性在岩原鲤中得到了进一步的体现。

岩原鲤 GtH 3 亚基的等电点与已知的鲤、大麻哈鱼 (*Oncorhynchus keta*) 等其他鱼类的 FSH β 和 LH β 亚基的等电点相近 (Suzuki et al. 1988, Van Der Kraak et al. 1998)。岩原鲤促性腺激素 GtH 3 个亚基的前 23 个氨基酸残基序列均为信号肽序列,其后编码的氨基酸残基也均为成熟肽序列,信号肽序列长度和其他鱼类及脊椎动物长度相接近 (Van Der Kraak et al. 1998, Quérat et al. 2000, Zhou et al. 2010)。

3.2 岩原鲤 GtH 3 个亚基的组织表达差异

通常认为垂体是促性腺激素合成并分泌的唯一组织 (牛艳东等 2008)。最近的一些研究报道却证实 FSH β 和 LH β 亚基在鱼类垂体以外的组织中也有表达。Parhar 等 (2003) 证实在罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*) 脑中,能够检测到 FSH β 和 LH β 的表达。在斑马鱼中,研究人员也发现 GtH 3 个亚基在除垂体外的组织如脑、肾和肝等组织中都有表达 (So et al. 2005)。对南方鲇 (*Silurus meridionalis*) 的研究发现,FSH β 和 LH β 亚基随着卵巢的发育而逐渐表达 (Wu et al. 2009)。Wong 等 (2004) 在金头鲷 (*Sparus aurata*) 中证实 FSH β 和 LH β 亚基在卵母细胞中有表达且具有阶段性,受促性腺激素释放激素的调节。本实验所采用的岩原鲤皆为 2~3 龄的成鱼,GtH α 、FSH β 和 LH β 3 个亚基在不同的组织中表达也存在差异,GtH α 、FSH β 亚基 mRNA 在垂体、卵巢、心、脑和肝中均有表达,LH β 亚基 mRNA 只在垂体和卵巢中表达,肌肉组织中仅 GtH α 亚基 mRNA 有表达。基于以上的研究进展,有学者提出促性腺激素垂体外的表达或许是一种常见的生理现象 (Wong et al. 2004)。有研究 (Wu et al. 2009) 指出,GtH α 、FSH β 和 LH β 的表达存在性别分化,即卵巢中存在 3 个亚基 GtH α 、FSH β 和 LH β 的表

达,而精巢中没有表达。本实验用鱼均为雌性,其表达是否也存在性别分化尚需更进一步的研究。

岩原鲤 GtH α 亚基的表达量存在明显的组织差异 (图 1)。不同组织中表达模式的差异可能是由多方面因素造成的。首先,可能是因为组织特异性的启动子元件造成的,而垂体和性腺中的亚基转录就是这些特异性的启动子元件起作用 (Yaron 1995),使得不同组织的表达量存在差异;其次,促性腺激素表达模式可能存在物种差异;此外,取样的阶段也有可能是原因之一。但是,促性腺激素的组织表达模式还需要更进一步的研究。动物的生殖活动受生殖内分泌系统的调节,丘脑下部-垂体轴是这一调节系统的核心 (章孝荣等 1997)。在一定环境条件影响和下丘脑的调控作用支配下,使脑垂体促性腺激素的合成与释放活动增强,它作用于性腺组织而诱导性类固醇激素的产生,进而促使配子发育成熟和排精与排卵 (林浩然 1991)。对岩原鲤性腺发育进行调节的因素可能众多,分子机理方面的研究是探究其规律很有效的一种手段,但是该方面的研究还很欠缺,本实验的研究结果为岩原鲤性腺发育的分子机理研究提供了一定的基础资料。

致谢 四川省水产研究所刘光讯博士提供岩原鲤样本,特此致谢。

参 考 文 献

- Li M D, Ford J J. 1998. A comprehensive evolutionary analysis based on nucleotide and amino acid sequences of the α - and β -subunits of glycoprotein hormone gene family. *Journal of Endocrinology*, 156(3): 529-542.
- Livak K J, Schmittgen T D. 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method. *Methods*, 25(4): 402-408.
- Parhar I S, Soga T, Ogawa S, et al. 2003. FSH and LH- β subunits in the preoptic nucleus: ontogenic expression in teleost. *General and Comparative Endocrinology*, 132(3): 369-378.
- Pierce J G, Parsons T F. 1981. Glycoprotein hormones: structure and function. *Annual Review of Biochemistry*, 50(1): 465-495.

- Quérat B, Sellouk A, Salmon C. 2000. Phylogenetic analysis of the vertebrate glycoprotein hormone family including new sequences of sturgeon (*Acipenser baeri*) β subunits of the two gonadotropins and the thyroid-stimulating hormone. *Biology of Reproduction*, 63(1): 222–228.
- So W K, Kwok H F, Ge W. 2005. Zebrafish gonadotropins and their receptors: II. cloning and characterization of zebrafish follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone (LH) subunits—their spatial-temporal expression patterns and receptor specificity. *Biology of Reproduction*, 72(6): 1382–1396.
- Sohn Y C, Suetake H, Yoshiura Y, et al. 1998. Structural and expression analyses of gonadotropin I β subunit genes in goldfish (*Carassius auratus*). *Gene*, 222(2): 257–267.
- Suzuki K, Kawauchi H, Nagahama Y. 1988. Isolation and characterization of two distinct gonadotropins from Chum Salmon pituitary glands. *General and Comparative Endocrinology*, 71(2): 292–301.
- Van Der Kraak G J, Chang J P, Janz D M. 1998. *Reproduction//Evans D H. The Physiology of Fishes*. New York: CRC Press LLC, 465–488.
- Vischer H F, Teves A C, Ackermans J C M, et al. 2003. Cloning and spatiotemporal expression of the follicle-stimulating hormone β subunit complementary DNA in the African Catfish (*Clarias gariepinus*). *Biology of Reproduction*, 68(4): 1324–1332.
- Wong T T, Zohar Y. 2004. Novel expression of gonadotropin subunit genes in oocytes of the gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Endocrinology*, 145(11): 5210–5220.
- Wu F R, Zhang X Y, Zhang W L, et al. 2009. Expression of three gonadotropin subunits in southern catfish gonad and their possible roles during early gonadal development. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular and Integrative Physiology*, 153(1): 44–48.
- Yaron Z. 1995. Endocrine control of gametogenesis and spawning induction in the carp. *Aquaculture*, 129(1/4): 49–73.
- Zhou Y, Niu Y D, Tao M, et al. 2010. Molecular cloning, characterization and expression of FSH and LH beta subunits from grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 36(2): 213–221.
- 乐佩琦, 陈宜瑜. 1998. 中国濒危动物红皮书 鱼类. 北京: 科学出版社, 170–172.
- 林浩然. 1991. 鱼类促性腺激素分泌的调节机理和高效新型鱼类催产剂. *生物科学信息*, 3(1): 24–25.
- 牛艳东, 周毅, 陶敏, 等. 2008. 鳊鱼 (*Hypophthalmichthys nobilis*) 促性腺激素 β 亚基的克隆、表达和序列分析. *湖南师范大学自然科学学报*, 31(2): 120–124.
- 度云. 2007. 岩原鲤的人工繁殖技术. *安徽农业科学*, 35(13): 3936–3937.
- 章孝荣, 王建辰. 1997. 山羊 GnRH 和促性腺激素的释放特点. *中国兽医学报*, 17(2): 177–179.
- 周亮, 谢伟, 雷泽洪, 等. 2002. 岩原鲤的人工繁殖和苗种培育试验. *水产科技情报*, 29(5): 218–219.

欢迎订阅《动物学杂志》

《动物学杂志》是中国科学院动物研究所、中国动物学会主办的科技期刊,亦是中國自然科学核心期刊。主要报道动物学领域的最新研究成果,介绍有创见的新思想、新学说、新技术、新方法。报道范围既有宏观生态研究,又有微观实验技术。报道层次既有科学前沿性、资料性的,也有技术性、知识性的。稿件内容涉及范围广,实用性强,主要栏目有:研究报告、珍稀濒危动物、技术与方法、研究简报和快讯、科技动态等等。读者对象为动物科学领域的研究、教学、技术、管理人员及广大业余爱好者。

《动物学杂志》双月刊,16开,112页,2013年每册定价60元,全年360元,国内外公开发行。国内邮发代号:2-422;国外发行代号(Code No.):BM58。全国各地邮局均可订阅。如未能在当地邮局订到,可与编辑部直接联系。本刊对在校学生及个人订户7折优惠(直接与编辑部联系订阅)。

地址:北京市朝阳区北辰西路1号院5号中国科学院动物研究所内《动物学杂志》编辑部

邮编:100101;电话:(010)64807162。

E-mail: journal@ioz.ac.cn。网址: <http://dwz.z.iz.ac.cn>。

欢迎投稿、欢迎订阅、欢迎刊登广告。