

# 鱼类多肽激素基因工程研究进展及展望

## THE PROGRESS AND PROSPECT OF GENE ENGINEERING OF FISH POLYPEPTIDE HORMONE

陈松林

(中国水产科学研究院长江水产研究所, 沙市 434000)

Chen Songlin

(Changjiang Fisheries Research Institute of CAFS, Shashi 434000)

关键词 鱼,多肽激素,基因工程

KEYWORDS fish, polypeptide hormone, gene engineering

基因工程是二十世纪七十年代兴起的一门生物高新技术,它的出现使生命科学的研究发生了革命性变化,在解决医药与健康、食品与资源、农业与环境等人类社会所面临的重大问题上,显现出巨大的生命力和诱人的应用前景。水产业是农业的重要组成部分,担负着为人类提供水产品蛋白质的责任。基因工程在水产业中应用的一个重要目的就是鱼类的生长、繁殖和代谢等生理过程按照人们的意愿去进行调控。而在这个方面,内分泌激素起着重要作用。众所周知,鱼类的生长、发育、繁殖及代谢等都是受脑垂体和下丘脑分泌的各种激素所调节、控制的。因此,开展鱼类激素基因分离、克隆及表达的研究已引起人们的普遍关注与重视,并且成为近年来国际上的研究热点之一。本文拟就国内外有关鱼类下丘脑和垂体激素基因工程研究的最新进展作一综述评。

### 一、下丘脑激素

鱼类下丘脑中,共含有七种激素,其中四种是释放激素(因子),三种是释放的抑制激素(因子)。目前只对其中两种释放激素的基因克隆进行了初步研究。

#### (一) 促性腺激素释放激素(GnRH)

GnRH是一种十肽激素。其主要作用是刺激垂体促性腺激素(GTH)的合成与分泌。由于GnRH对鱼类生殖所起的重要调节作用,近年来除了开展鱼类GnRH分离纯化和结构分析研究外,还开展了GnRH基因克隆的研究。挪威的Klungland等[1991]从大西洋鲑基因文库中筛选到二株编码GnRH的阳性克隆,对其中一株克隆进行了DNA序列分析,表明在5'端有一个较长的不翻译序列(>1000碱基对),接下来是编码23个氨基酸长的信号肽序列和编码成熟GnRH(10肽)的核苷酸序列,再往后就是编码GnRH伴随肽的核苷酸序列。从cDNA序列推导出的GnRH氨基酸序列与Shewood等[1983]

用化学测序法获得的相同。在10个氨基酸中有8个的位置与哺乳类(例如人)的LHRH相同,而只有7和8位上的氨基酸不同。在GnRH和其伴随肽之间的裂解区编码序列在大西洋鲑和鼠也是一样的,而信号肽序列与鼠的也完全相同,从而表明GnRH基因在物种进化中的高度保守性。

## (二) 促肾上腺皮质激素释放因子(CRF)

CRF是一种刺激垂体促肾上腺素合成与分泌的肽类激素。这种激素在下丘脑—垂体—肾上腺轴中起着重要的调节作用。近年来有些学者开展了鱼类CSF基因克隆方面的工作。德国的Okawara等[1989]从白亚口鱼下丘脑中分离纯化出Poly(A)<sup>+</sup>RNA,据此制备了cDNA文库,并从文库中筛选出编码CRF前体的cDNA克隆。由cDNA序列推导出的CRF由41个氨基酸残基组成,与哺乳类(人、羊)的CRF相类似。虽然鱼类和哺乳类在遗传进化上的差距很大,但在CRF结构上却有很大的同源性,在41个氨基酸中只在靠近C-末端处有二个残基不同。进一步的工作正在进行中。

## 二、垂体激素

以前的研究表明鱼类腺垂体中主要合成与分泌六种多肽激素,即促肾上腺皮质激素(ACTH)、催乳素(PRL)、促甲状腺素(TSH)、生长激素(GH)、促性腺激素(GTH)和黑色素细胞刺激素(MSH)。最近,Ono等[1990]、Rand-Weaver等[1991]在几种鱼垂体中分离纯化出了一种新的多肽激素。经鉴定,该种激素与生长激素和催乳激素同属一个家族。其结构既类似于GH和PRL,但又不同于这两种激素,因而暂时取GH(Somatotropin)和PRL(Prolactin)两个英文单词的首、尾几个字母命名为Somatolactin(简写为SL),因目前暂无相应的中译名,笔者在此将其暂称之为生长—催乳素,正式译名有待今后确定。在鱼类垂体激素基因工程方面,目前只是在GH、PRL、GTH和SL四种激素上有过报道。下面将分别加以介绍。

### (一) 生长激素(GH)

GH是由垂体间叶细胞合成与分泌的一种非糖蛋白激素。其主要生理功能是促进鱼类的生长、发育。通过增加鱼体内GH含量,可以达到促进鱼体生长的目的[陈松林,1992]。而增加鱼体内GH含量的途径目前主要有二条:(1)直接给鱼注射外源GH制品;(2)将外源GH基因转移至鱼类受精卵中,使其整合并表达外源GH。在这两个方面,基因工程起着重要作用,因而成为近年来国际上最为活跃的研究领域之一。自第一篇有关鱼类GH cDNA克隆的论文[Sekine等,1985]发表至今不到10年,已经在虹鳟等16种鱼类上开展了GH基因或cDNA克隆的研究(表1)。下面分别以鲑鳟鱼类和鲤科鱼类为例略加阐述。

在基因克隆方面,目前已经从虹鳟、大西洋鲑、草鱼、鲤和罗非鱼5种鱼类基因组文库中分离到了GH基因。Agellon等[1988]从虹鳟精巢基因文库中筛选出GH基因克隆。序列分析表明虹鳟GH基因含有约4000碱基对(bp),由6个外显子(外显子I,75bp;II,140bp;III,117bp;IV,158bp;V,147bp和VI,568bp)和5个内含子(内含子I,485bp;II,138bp;III,443bp;IV,115bp;V,245bp)组成。与哺乳类相比,虹鳟GH基因多出一个内含子和一个外显子。在虹鳟GH基因的5'和3'端,含有大量的编码GH mRNA不翻译区的核苷酸序列,虹鳟GH基因的全长约为哺乳类的2倍。大西洋鲑GH基因在大小、结构上均与虹鳟差不多[Johansen等,1989]。与鲑鳟鱼类相比,罗非鱼GH基因虽然也由6个外显子和5个内含子组成,但基因要小得多,仅由约1700bp组成[Ber和Daniel,1992]。而鲤鱼和草鱼GH基因的结构与上述三种鱼不同,只含有5个外显子和4个内含子,整个基因由约2400bp组成[Chiou等,1990;Zhu等,1991]。现将几种鱼和哺乳类GH基因结构模式图比较于图1。

表1 鱼类生长激素基因工程研究概况

Table 1 Summary of gene engineering researches in fish growth hormone

种 类	GH 基因 (或 cDNA)	来 源	国家或 地区
虹鳟 ( <i>Salmo gairdneri</i> )	cDNA	Agellon 和 Chen[1986] Rentier-Delrue 等[1988]	美 国 比利时
大马哈鱼 ( <i>Oncorhynchus keta</i> )	GH 基因	Agellon 等[1988]	美 国
大西洋鲑 ( <i>Salmo salar</i> )	cDNA	Sekine 等[1986]	日 本
	GH 基因	Lorens 等[1989]	美 国
大鳞大马哈鱼 ( <i>O. tshawytscha</i> )	cDNA	Johanson 等[1989]	挪 威
		Hew 等[1989]	加 拿 大
		宋诗铎等[1992]	中 国
银大马哈鱼 ( <i>O. kisutch</i> )	cDNA	Nicoll 等[1987]	美 国
		Gonzales-Villasenor 等[1988]	美 国
真鲷 ( <i>Pagrus major</i> )	cDNA	Momota 等[1988a]	日 本
金鲷 ( <i>S. aurata</i> )	cDNA	Funkenstein 等[1991]	以 色 列
日本鲷 ( <i>Paralichthys olivaceus</i> )	cDNA	Momota 等[1988b]	日 本
鲷鱼 ( <i>Serida quinqueradiata</i> )	cDNA	Watabiki 等[1988]	日 本
		Sato 等[1988]	
金枪鱼 ( <i>Tharunus thyrus</i> )	cDNA	Nonaka 等[1989]	日 本
尼罗罗非鱼 ( <i>Tilapia nilotica</i> )	GH 基因	Ber 和 Danie[1992]	以 色 列
	cDNA	Rentier-Delrue 等[1989b]	比 利 时
		Chao 等[1989]	台 湾
鲤 ( <i>Cyprinus carpio</i> )	cDNA	Koren 等[1989]	以 色 列
	GH 基因	Chiou 等[1990]	台 湾
鲢 ( <i>Hypophthalmichthys molitrix</i> )	cDNA	Chang 等[1992b]	台 湾
鳙 ( <i>H. nobilis</i> )	cDNA	Chang 等[1992b]	台 湾
草鱼 ( <i>Ctenopharyngodon idellus</i> )	cDNA	Ho 等[1989]	香 港
	GH 基因	朱作言等[1991]	中 国
鳗鲡 ( <i>Anguilla japonica</i> )	cDNA	Saito 等[1988]	日 本

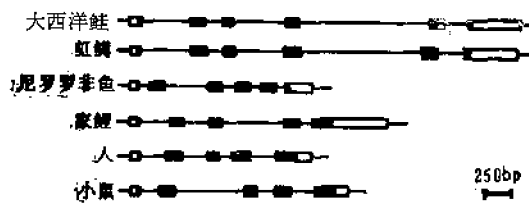


图1 几种鱼类和哺乳类 GH 基因结构之比较(—: 内含子, ■: 翻译的外显子, □: 转录但不翻译的外显子)[引自 Ber 和 Daniel, 1992]

Fig. 1 Comparison of the GH gene structure of several fishes and mammalian (—: Introns, ■: Coding region, □: Transcribed and untranslated regions) [From Ber and Daniel, 1992]

在 cDNA 克隆方面,目前已获得了约 18 种鱼 GH 的 cDNA 克隆。日本的 Sekine 等[1985]率先从大马哈鱼垂体 cDNA 文库中克隆了 GH 的 cDNA,并表明其全长为 1120bp,包括 5' 端 64 个 bp 和 3' 端 426 个 bp 的不翻译序列以及 630bp 的 GH 前体编码系列,其 GH 前体由 210 个氨基酸残基组成,其中 22 个为信号肽,188 个为成熟 GH 序列。我国台湾的 Chang 等[1992b]从白鲢 cDNA 文库中筛选出编码 GH 的 cDNA 克隆,并表明其全长为 1160bp,包括 22bp 的 5' 端不翻译区,630bp 的 GH 前体编码区和

表2 鱼类及哺乳类 GH 的氨基酸数目与同源率比较  
Table 2 Comparison of amino acid number and homology analysis  
of fish and mammalian GH

种 类	GH 氨基酸数目	与大麻哈鱼 GH 同源率(%)
大麻哈鱼	188	—
虹 鳟	188	100
大鳞大麻哈鱼	188	99
银大麻哈鱼	188	97
白 鲢	188	68
真 鲷	186	68
鲈 鱼	185	67
大西洋鲑	185	66
罗非鱼	187	64
金枪鱼	187	60
鳊 鱼	190	44
牛	191	37
人	191	35

注: 资料引自伊藤善哉[1988]和 Chang Y. S.等[1992b]。

500bp 的 3' 不翻译区。与大马哈鱼一样,白鲢 GH 前体也由 210 个氨基酸组成。通过 cDNA 克隆方法目前已经弄清了多种鱼类 GH 的氨基酸序列。现将鱼类及哺乳类 GH 一级结构的同源性比较于表 2。

鱼类 GH 基因(或 cDNA)的获得为大量生产重组鱼类 GH 和进行“全鱼式”转基因育种研究提供了可能性和物质基础。Sekine 等[1985]将大马哈鱼 GH cDNA 重组到大肠杆菌(*Escherichia coli*)中,在色氨酸启动子的控制下,成功地表达合成了大马哈鱼 GH 蛋白,产率为菌体总蛋白的 15%。随后,一些学者相继将鲑鳟鱼类、罗非鱼和金枪鱼等 GH 的 cDNA 重组到微生物体内,并获得了效率不同的表达。现将已报道的一些结果汇于表 3。有关哺乳类和鱼类天然 GH 制备物对鱼类生长的促进作用,以前的报道已较为多见[Donaldson 等,1979;陈松林,1992]。至于重组鱼类 GH 的促生长作用,目前也有一些报道。Agellon 等[1988]用重组虹鳟 GH 处理虹鳟幼鱼,当注射剂量为 1 $\mu$ g/g 体重时,促生长活性最强,在 5 周实验结束时,实验鱼比对照鱼生长快约 50%。最近,Pector 等[1991]给虹鳟幼鱼注射重组大马哈鱼 GH,剂量为 0.1 $\mu$ g/g 体重,一周注射二次,三周后观察到实验鱼的增重为对照组的 233%—294%,其饵料系数也明显降低。

表3 鱼类 GH cDNA 在大肠杆菌或酵母中的表达情况  
Table 3 Expression of fish GHcDNA in *E. Coli* or in yeast

种 类	宿主细胞	表 达 效 率 (GH 占菌体总蛋白的%)	来 源
大马哈鱼	<i>E. Coli</i>	15%	Sekine 等[1985]
大马哈鱼	<i>E. Coli</i>	30%	伊藤善哉[1988]
大鳞大马哈鱼	<i>E. Coli</i>	10%	Hew 等[1989]
虹鳟 GH I	<i>E. Coli</i>		Agellon 和 Chen[1988]
虹鳟 GH II	<i>E. Coli</i>	10~30mgGH/升	Rentier-delrue 等[1991]
罗非鱼	<i>E. Coli</i>	10~20mgGH/升	Rentier-delrue 等[1991]
金枪鱼	<i>E. Coli</i>	GH 占包涵体的30%	Nonaka 等[1989]
	酵 母	2~3%	
鳊 鳊	<i>E. Coli</i>	5%	Saito 等[1988]

克隆鱼类 GH 基因 (或 cDNA) 的另一个目的就是进行转基因鱼研究。以前用于转基因鱼构建的 GH 基因大多来自哺乳类 (如人), 由于种族特异性的存在, 加之人们对于食用含人 GH 基因的鱼存有顾虑, 因而这些异源基因的应用前景有限。应用鱼类自身的 GH 基因和启动子构建“全鱼式”转基因鱼的研究便成了国内外学者共同感兴趣的问题。在这一方面, 美国的 Chen 等 [1989] 率先将构建的虹鳟 GH cDNA 与 RSV 启动子连结后显微注射到鲤和泥鳅受精卵中。在所检测的转基因鱼中, 大约有 5.5% 的鲤鱼含有虹鳟 GH cDNA, 其生长也明显快于对照组; 并且发现转基因鱼的后代也比对照组生长更快。以色列的 Funkenstein 等 [1991] 进行了将虹鳟 GH cDNA 与 RSV 启动子的重组质粒转移到金鲷受精卵的实验, 并表明外源 cDNA 已经整合到受体鱼基因组中。我国学者 Zhang, P. J. 等 [1990] 将虹鳟 GH cDNA 与 RSV-LTR 启动子重组后转移到鲤受精卵中, 获得了比对照组生长快 20% 的转基因个体; 随后, 又将含银大马哈鱼 GH cDNA 和 RSV-LTR 启动子的重组质粒显微注射到金鱼未成熟卵母细胞中, 经体外培养成熟和授精后检测到 22% 的转基因个体含有外源 GH cDNA 序列, 其生长速度也比对照组快约 15% [Zhang 等, 1991]。最近, 我国学者 Zhu, Z. Y. 等 (1991) 报道了他们构建“全鱼式”鲤科鱼类 GH 重组基因的结果。加拿大的 Du 等 [1992] 首次将鳕鱼抗冻蛋白基因启动子与大鳞大马哈鱼 GH cDNA 重组后转移到大西洋鲑受精卵中, 获得了比对照组生长快 2—6 倍的转基因鱼。尽管构建“全鱼式”转基因鱼的工作开展的时间不长, 但进展很快。相信在不久的将来, 将会有更多的快速生长的“全鱼式”转基因鱼问世。

## (二) 催乳激素 (PRL)

PRL 是一类与 GH 相类似的多肽激素。PRL 在鱼类的主要功能是调节渗透压和离子平衡, 且与生长和生殖也有关系。鉴于 PRL 的重要生理作用, 近年来开展了鱼类 PRL 基因克隆的研究。Kawana 等 [1988] 从大马哈鱼垂体 cDNA 文库中筛选出编码 PRL 的 cDNA 克隆, 并测定了其核苷酸序列。该 cDNA 由 5' 和 3' 端不翻译区及 PRL 前体编码系列组成。由 cDNA 序列推导出大马哈鱼 PRL 的前体为 210 个氨基酸组成, 其中 23 个为信号肽序列, 187 个为成熟 PRL 序列。Song, S. 等 [1988] 以大鳞大马哈鱼为材料进行了类似研究, 表明该种鱼 PRL cDNA 全长为 1100bp, 包括 5' 端 18 个 bp 和 3' 端 407 个 bp 的不翻译序列及 633 个 bp 的 PRL 前体编码序列, PRL 前体由 23 个氨基酸的信号肽及 188 个氨基酸的成熟 PRL 系列所组成。我国台湾的 Chang 等 [1992a] 克隆了花鲢和白鲢 PRL 的 cDNA, 序列分析表明该 cDNA 全长为 1170bp, 包括 30bp 的 5' 端不翻译区、510bp 的 3' 端不翻译区及 630bp 的编码系列。花鲢 PRL 前体也由 23 个氨基酸长的信号肽和 187 个氨基酸长的成熟 PRL 组成。目前

表 4 鱼类、鸡和人催乳素 (PRL) 的氨基酸数量及其同源率比较

Table 4 Comparison of amino acid number and homology analysis of PRL from fish, chicken and human

种 类	PRL 氨基酸数目	与白鲢 PRL 同源率 (%)	来 源
白 鲢	187	—	Chang 等, 1992a
花 鲢	187	99.5	Chang 等, 1992a
鲤 鱼	187	97	Yasuda 等, 1987
大麻哈鱼	187	69	Yasuda 等, 1986
大鳞大麻哈鱼	188	68	Song 等, 1988
虹 鳟	187	70	Mercier 等, 1989
罗非鱼 I	188	64	Rentier-Delrue 等, 1989
罗非鱼 II	177	64	
鸡	198	35	Hanks 等, 1989
人	199	30	Cooke 等, 1981

已经弄清了几种鱼类 PRL 的一级结构, 现将几种不同来源的 PRL 的氨基酸数目及其同源性示于表 4。

在获得 PRL cDNA 克隆的基础上, 伊藤善哉[1988]借助于微生物发酵合成了具有生物活性的大马哈鱼 PRL 产品, 其产率为菌体总蛋白的 2—3%。Hew 等[1989] 将含有大鳞大马哈鱼 PRL cDNA 的重组质粒转化大肠杆菌成功地表达生产了 PRL, 产率为菌体总蛋白的 2—10%。Rentier-Delrue 等[1989; 1991]在罗非鱼和虹鳟上进行了类似研究, 重组罗非鱼 PRL 在大肠杆菌中的表达产率为 10—30mg/升培养物。鱼类 PRL 在水产养殖上应用的研究目前报道还不多。鉴于这种激素的主要作用是调节渗透压和离子平衡, 因此可望将基因工程合成的 PRL 应用于洄游性鱼类研究中。

### (三) 促性腺激素(GTH)

GTH 是由垂体间叶细胞合成与分泌的一类糖蛋白激素。主要生理作用是刺激生殖细胞的生长、发育、成熟、排精及排卵等。与哺乳类一样, 组成鱼类 GTH 的两个亚基( $\alpha$  和  $\beta$ ) 分别受两个不同的基因所控制, 从而给 GTH 的基因工程研究带来一定困难。但近年来, 仍有一些学者开展了鱼类 GTH 亚基 cDNA 克隆和表达的研究工作。Trinh 等[1986] 从大鳞大马哈鱼垂体 cDNA 文库中筛选出编码 GTH  $\beta$  亚基前体的 cDNA 克隆, 该前体由 142 个氨基酸组成, 其中 23 个为信号肽, 119 个为成熟 GTH  $\beta$  亚基。Hew 等[1989] 用大鳞大马哈鱼 GTH  $\beta$  亚基的 cDNA 与  $\lambda$  pL 启动子重组后在大肠杆菌中成功地表达合成了  $\beta$  亚基多肽, 表达产率为菌体总蛋白的 2—5%。最近, Chang 等[1990] 用鳊 GTH cDNA 作探针[Chang 等, 1988]从鳊垂体 cDNA 文库中筛选到分别编码 GTH  $\alpha$  和  $\beta$  亚基的 cDNA 克隆。系列分析表明, 白鳊 GTH  $\alpha$  亚基 cDNA 全长 869bp, 包括 5' 端 31bp 和 3' 端 481bp 的不翻译区以及 354bp 的编码系列;  $\alpha$  亚基前体共 118 个氨基酸, 其中 23 个为信号肽, 95 个为成熟系列。白鳊 GTH  $\beta$  亚基 cDNA 全长 554bp, 其中 5' 端和 3' 端的不翻译系列分别为 18bp 和 110bp, 编码系列为 423bp。  $\beta$  亚基前体共含 143 氨基酸, 其中 24 个为信号肽, 119 个为成熟  $\beta$  亚基。与鳊 GTH 相比, 鳊 GTH  $\alpha$  亚基有 2 个氨基酸与鳊不同,  $\beta$  亚基有 4 个氨基酸与鳊不同。现将鱼类和哺乳类 GTH 同源性比较于表 5。

表 5 鱼类与哺乳类 GTH 亚基的同源性比较

Table 5 Homology analysis of teleost and mammalian GTH subunits

亚基	GTH 来源	同源率(%)	亚基	GTH 来源	同源率(%)	
$\alpha$	scGTH 对 cGTH	98	$\beta$	scGTH 对 cGTH	97	
	scGTH 对 bLH	72		scGTH 对 aGTH	75	
	aGTH 对 bLH	65		scGTH 对 bLH	42	
	eGTH 对 mLH	60—70		scGTH 对 bFSH	40	
	bLH 对 bLH	74		sGTH 对 bLH	41	
			sGTH 对 bFSH	35		
			eGTH 对 mLH	45—48		

注: (1) scGTH: 白鳊 GTH; cGTH: 鳊 GTH; sGTH: 大马哈鱼 GTH; eGTH: 鳊鱼 GTH; bLH, bFSH; 牛 LH, 牛 FSH; hLH: 人 LH; mLH: 哺乳类 LH。

(2) 资料引自 Chang, Y. S. 等[1990]。

由上表可见, 鱼类 GTH  $\alpha$  亚基之间, 以及与哺乳类 LH $\alpha$  亚基之间存在较大的同源性, 而  $\beta$  亚基的同源性相对较小, 从而表明  $\alpha$  亚基在动物进化中较  $\beta$  亚基更为保守, 而这种激素的种族特异性主要通过  $\beta$  亚基表现出来。

### (四) 生长—催乳激素(Somatolactin-SL)

SL 是 90 年代初日本学者在硬骨鱼类脑垂体中发现的一种新的多肽激素 [Ono 等, 1990; Rand-

Weaver等,1991;Takayama等,1991]。这种激素与GH和PRL同属一个家族,起源于一个共同的祖先分子。Ono等[1990]率先从鳟鱼垂体中分离纯化出了SL,生化测定表明,该种鱼SL的分子量约为28000道尔顿,由一条肽链组成,在N-末端有一个糖基化位点,因而属于糖蛋白激素。同时,该研究小组又从鳟鱼垂体cDNA文库中克隆了SL的cDNA。序列分析表明SL cDNA全长约1600bp,包括18bp的5'端不翻译序列,890bp的3'端不翻译序列和693bp的SL前体编码序列。SL前体由231个氨基酸组成,其中24个为信号肽,207个为成熟SL肽链。随后,Rand-Weaver等[1991]从大西洋鳕垂体中纯化出了SL,Takayama等[1991]对大马哈鱼SL的基因克隆进行了研究,并获得了SL基因,目前正在测定其核苷酸序列。

有关SL确切的生理功能目前还不太清楚,但据初步研究表明,鱼类的SL可能与增强免疫力,调节生长、代谢及离子平衡有关。科学家们正在研究以期弄清SL的真正作用及其基因表达的调节控制等问题。

### 三、展 望

综上所述,基因工程在鱼类多肽激素研究中已发挥了重要作用,其发展势头有增无减。在下丘脑激素中,已经克隆了大西洋鳕GnRH基因和白鲟口鱼CRF的cDNA,并测定了其核酸序列。除上述两种释放激素外,从目前国际上的发展趋势及实用价值来看,开展鱼类下丘脑生长激素释放激素(GHRH)基因分离、cDNA克隆及用于转基因育种的研究,可能是今后鱼类下丘脑激素基因工程的发展方向之一。在鱼类垂体激素中,以GH基因工程研究进展最快。迄今已经克隆了近20种鱼类GH的基因或cDNA,且获得了某些鱼类的重组GH产品,下一步即重点研究GH制品促进鱼类生长的处理途径。如果将GH掺在饵料里进行投喂获得成功的话,那么基因重组鱼类GH在水产养殖中的应用前景将非常广阔。在这一方面,我国目前与国际上差距较大。在此,笔者建议我国应加强鱼类GH cDNA克隆及在微生物体内表达的研究,大量生产鱼类GH产品。使我国鱼类基因工程的研究向产业化方向迈进。在构建“全鱼式”转基因鱼方面,国外已率先获得了由鱼类GH cDNA和启动子构建的转基因大西洋鳕,并观察到明显的快速生长效应。我国目前也完成了草鱼和鲤鱼GH基因及肌动蛋白基因启动子克隆与重组的工作,正在进行转基因试验。在鱼类GTH基因工程方面,目前加拿大和我国台湾的研究较为领先,已分别获得了鲑科鱼类和鲤科鱼类GTH亚基的cDNA克隆,并将其重组到细菌中进行了表达和大量生产的试验。只要解决了重组GTH亚基的糖基化及 $\alpha$ 和 $\beta$ 链结合等问题,重组GTH产品可望在鱼类繁殖中得到推广应用。总之,只要国家有关主管部门重视,加之水产界同仁的共同努力和协作,相信在不久的将来,基因工程必将在我国水产业中开创一个新的局面。

### 参 考 文 献

- [1] 朱作言等,1990. 鲤鱼和草鱼基因文库的构建及其生长激素基因和肌动蛋白基因的筛选. 水生生物学报,14: 176—178.
- [2] 宋诗铎等,1992. 鲑鱼生长激素cDNA的分子克隆和序列分析. 遗传学报,19:308—315.
- [3] 陈松林,1992. 鱼类生长内分泌学和鱼类养殖. 水产学报,16:91—100.
- [4] 伊藤青我,1988. 鱼类ペプチホルモクへの遺伝子技術の応用. 遺伝,42: 36—40.
- [5] Agellon, L. B. and T. T. Chen, 1986. Rainbow trout growth hormone: Molecular cloning of cDNA and expression in *Escherichia Coli*. DNA, 5: 463—471.
- [6] Agellon, L. B. et al., 1988a. Structure of a fish (rainbow trout) growth hormone gene and its evolutionary implications. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 85: 5136—5140.
- [7] —, 1988b. Promotion of rapid growth of rainbow trout by a recombinant fish growth hormone. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 45: 146—151.
- [8] Ber, R. and V. Daniel, 1992. Structure and sequence of the growth hormone-encoding gene from *Tilapia nilotica*. Gene, 113: 245—250.

- [9] Chang, Y. S. *et al.*, 1988. The primary structure of carp gonadotropin subunits deduced from cDNA nucleotide sequence. *Int. J. Pept. Protein Res.*, **32**: 556—564.
- [10] —, 1990. Purification, characterization and molecular cloning of gonadotropin subunits of silver carp. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **78**: 23—33.
- [11] —, 1992a. Molecular cloning of silver carp and bighead carp prolactin. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **87**: 260—265.
- [12] —, 1992b. The primary structure of growth hormones of three cyprinid species: Bighead carp, silver carp and grass carp. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **87**: 285—333.
- [13] Chao, S. C. *et al.*, 1989. Purification of carp growth hormone and cloning of the cDNA. *Biochem. Biophys. Acta.*, **1007**: 233—236.
- [14] Chen, T. T. *et al.*, 1989. Gene transfer, expression and inheritance of rainbow trout and human GH genes in carp and loach. *Abstracts of the first Inter. Marine Biotech. Congress*, September 4—6, 1989, Tokyo, Japan.
- [15] Chion, C. S. *et al.*, 1990. The complete nucleotide sequence of the growth hormone gene from the common carp (*Cyprinus carpio*). *Biochim. Biophys. Acta.*, **1087**: 91—94.
- [16] Cooke, W. C. *et al.*, 1981. Human prolactin cDNA structural analysis and evolutionary comparisons. *J. Biol. Chem.*, **256**: 4006—4016.
- [17] Donaldson, E. M. *et al.*, 1979. Hormonal enhancement of growth. In: W. S. Hoar *et al.* (Eds), *Fish physiology*, **3**: 455—500. Academic press, New York.
- [18] Du, S. J. *et al.*, 1992. Growth enhancement in transgenic Atlantic salmon by the use of "all fish" chimeric growth hormone gene construct. *Bio/Technology*, **10**: 176—181.
- [19] Funkenstein, B. *et al.*, 1991a. Gene transfer of growth hormone in the gilthead sea bream (*Sparus aurata*) and characterization of its pregrowth hormone cDNA. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **82**: 326.
- [20] —, 1991b. Cloning and sequencing of the gilthead seabream (*Sparus aurata*) growth hormone encoding cDNA. *Gene*, **103**: 243—247.
- [21] Gonzalez-Villasenor *et al.*, 1988. Molecular cloning and sequencing of coho salmon growth hormone cDNA. *Ibid.*, **65**: 239—246.
- [22] Hanks, M. C. *et al.*, 1989. Molecular cloning and sequence analysis of putative chicken prolactin cDNA. *J. Mol. Endocrinol.*, **2**: 21—30.
- [23] Hew, C. L. *et al.*, 1989. Molecular cloning and expression of salmon pituitary hormones. *Fish Physiol. Biochem.*, **7**: 375—380.
- [24] Ho, W. K. K. *et al.*, 1989. Cloning of the grass carp growth hormone cDNA. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **161**: 1239—1243.
- [25] Johansen, B. *et al.*, 1989. The complete nucleotide sequence of the growth-hormone gene from Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Gene*, **77**: 317—324.
- [26] Klungland, H. *et al.*, 1991. The gonadotropin-releasing hormone (GnRH) gene in Atlantic salmon. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **82**: 240.
- [27] Koren, Y. *et al.*, 1989. Carp growth hormone: Molecular cloning and sequencing of DNA. *Gene*, **77**: 309—315.
- [28] Kuwana, Y. T. *et al.*, 1988. Cloning and expression of cDNA for salmon prolactin in *E. Coli.*, *Agri. Biol. Chem.*, **52**: 1033.
- [29] Lorens, V. J. *et al.*, 1989. The nucleotide sequence of the Atlantic salmon growth hormone cDNA. *Nucleic Acids Res.*, **17**: 2352.
- [30] Mercier, L. *et al.*, 1989. Rainbow trout prolactin cDNA cloning in *E. Coli.*, *DNA*, **8**: 119—125.
- [31] Mota, H. *et al.*, 1988a. Nucleotide sequence of cDNA encoding the pregrowth hormone of red bream (*Pagrus major*). *Nucleic Acids Res.*, **16**: 3107.
- [32] —, 1988b. Amino acid sequence of flounder growth hormone deduced from a cDNA sequence. *Nucleic Acids Res.*, **16**: 10362.
- [33] Nicoll, C. S. *et al.*, 1987. The primary structure of Coho salmon growth hormone and its cDNA. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **68**: 387—399.



- [34] Nonaka, M. *et al.*, 1989. Microbial production of recombinant tuna growth hormone (r-tGH) and its application. *Abstracts of the first Inter. Marine Biotech. Conferenc.*, Sept. 4—6, 1989. Toko, Japan.
- [35] Okawara, Y. *et al.*, 1988. Cloning and sequence analysis of cDNA for corticotropin releasing factor precursor from the teleost fish, *Catostomus commersoni*. In: *Proceedings of the first Inter. Symp. on Fish Endocrinol.*, June 12—17, 1988, Edmonton, Canada.
- [36] Ono, M. *et al.*, 1990. cDNA cloning of somatolactin, a pituitary protein related to growth hormone and prolactin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **87**: 4330—4334.
- [37] Pector, R. *et al.*, 1991. Influence of injected recombinant trout growth hormone on growth and body composition of rainbow trout. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **82**: 826.
- [38] Rand-Weaver, M. *et al.*, 1991. Isolation and characterization of somatolactin, a new protein related to growth hormone and prolactin from Atlantic cod (*Gadus morhua*) pituitary glands. *Biochemistry*, **30**: 1509—1515.
- [39] Rentier-Delrue, F. *et al.*, 1988. Growth hormone and prolactin of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) and *Tilapia* (*Oreochromis nilotica*): Cloning, sequencing and expression. In: *Proceedings of the first Inter. Symp. on Marine Molecular Biology*, Oct. 9—11, 1988, Baltimore U. S. A.
- [40] —, 1989a. *Tilapia* prolactin: Molecular cloning of two cDNAs and expression in *E. coli*. *DNA* **8**: 261—270.
- [41] —, 1989b. *Tilapia* growth hormone: Molecular cloning of cDNA and expression in *Escherichia Coli*. *DNA* **8**: 271—278.
- [42] —, 1991. Recombinant fish pituitary hormones GH and PRL. Purification and characterization of biological properties. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **82**: 289.
- [43] Sato, N. *et al.*, 1988. Molecular cloning and nucleotide sequence of tuna growth hormone cDNA. *Biochim. Biophys. Acta.*, **949**: 35—42.
- [44] Saito, A. *et al.*, 1988. Molecular cloning of eel growth hormone cDNA and its expression in *Escherichia Coli*. *Gene*, **73**: 545—551.
- [45] Sekine, S. *et al.*, 1985. Cloning and expression of cDNA for salmon growth hormone in *Escherichia Coli*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **82**: 4306—4310.
- [46] Sherwood, N. M. *et al.*, 1983. Characterization of a teleost gonadotropin-releasing hormone. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **80**: 2794—2798.
- [47] Song, S. *et al.*, 1988. Molecular cloning and expression of salmon prolactin cDNA. *Eur. J. Biochem.*, **172**: 279—285.
- [48] Takayama, Y. *et al.*, 1991. Gene structure of chum salmon somatolactin, a presumed pituitary hormone of the growth hormones/prolactin family. *Mol. Endocrinol.*, **5**: 778—786.
- [49] Trinh, K. Y. *et al.*, 1986. Molecular cloning and sequencing of salmon gonadotropin subunit. *Eur. J. Biochem.*, **159**: 619—624.
- [50] Watahiki, N. *et al.*, 1988. cDNA cloning and primary structure of yellowtail pregrowth hormone. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **70**: 401—406.
- [51] Yasudr, A. *et al.*, 1986. Primary structure of chum salmon prolactins: Occurrence of highly conserved regions. *Arch Biochem. Biophys.*, **244**: 528—541.
- [52] —, 1986. Primary structure of common carp prolactin. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **66**: 280—290.
- [53] Zhang, P. J. *et al.*, 1990. Gene transfer, expression and inheritance of pRSV-trout-GH-cDNA in the common carp. *Cyprinus carpio*. *Mol. Repro. Dev.*, **25**: 3—13.
- [54] —, 1991. Gene transfer in gold fish, *Carrassius auratus*, by oocyte microinjection. In: *The Proc. 4th Inter. Symp. Genetics in Aquaculture*. April 29—May 3 1991, Wuhan, China.
- [55] Zhu, Z. Y. *et al.*, 1991. Cloning and sequencing of a grass carp growth hormone gene and construction of "all fish" recombinant growth hormone gene. In: *The Proc. 4th Inter. Symp. Genetic in Aquaculture*. April 29—May 3, 1991. Wuhan, China.