



活饵与饲料投喂下鳊胃 ghrelin 的表达变化比较

姚晓丽, 赵金良*

上海海洋大学, 农业农村淡水水产种质资源重点实验室, 上海, 201306

摘要 Abstract

本研究利用生信分析、免疫组织化学、qPCR和ELISA法探究了饲料和活饵投喂下鳊摄食前后胃饥饿素 ghrelin 的调控作用。诱食试验模拟鳊进食前看到食物但不能摄食现象, 进食试验模拟鳊正常摄食现象。结果表明: 鳊preproghrelin基因含有4个外显子和3个内含子, 属于II型基因型; 编码107个氨基酸, 成熟肽ghrelin由20个氨基酸构成, 活性中心为GSSF。Ghrelin阳性细胞位于胃腺中。诱食试验中, 活饵组胃ghrelin mRNA和蛋白表达水平均显著升高; 而饲料组ghrelin基因mRNA和蛋白表达水平未发生显著变化, 且显著低于活饵组。进食试验中, 活饵组进食后0h, 胃ghrelin mRNA和蛋白表达水平显著上升, 进食后2h下降至摄食前水平; 饲料组进食后0h至胃排空 ghrelin mRNA表达水平未出现显著变化, 蛋白水平呈波动变化。

方法 Methods

- 生信分析: Bioedit、ORFfinder、SingalP、ProtParam
- 免疫组化: Anti-ghrelin抗体
- RNA和蛋白定量: qPCR、ELISA

结果 Result

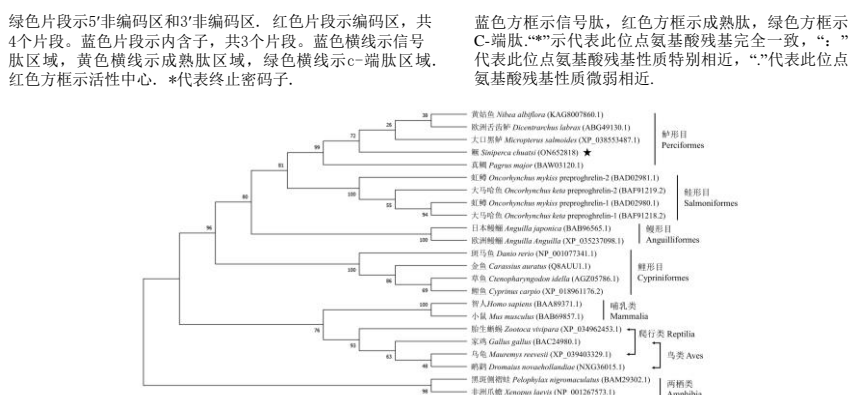
生信分析

绿色片段示5'非编码区和3'非编码区, 红色片段示编码区, 共4个片段。蓝色片段示内含子, 共3个片段。蓝色横线示信号肽区域, 黄色横线示成熟肽区域, 绿色横线示c-末端区域。红色方框示活性中心, *代表终止密码子。

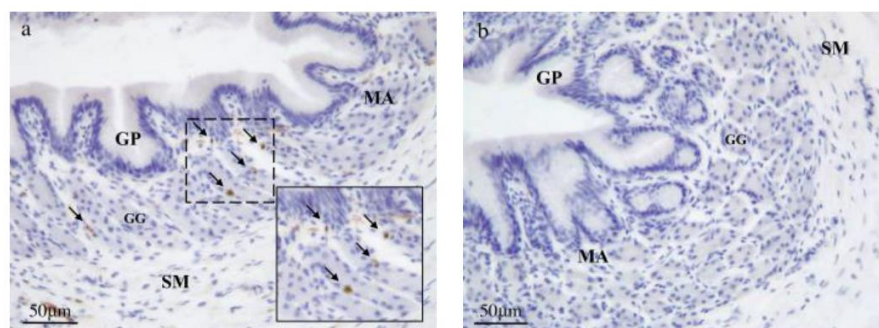
图1 鳊preproghrelin 基因序列与推导氨基酸序列

蓝色方框示信号肽, 红色方框示成熟肽, 绿色方框示C-端肽。**代表此位点氨基酸残基完全一致, *代表此位点氨基酸残基性质特别相近, ~代表此位点氨基酸残基性质微弱相近。

图2 脊椎动物preproghrelin氨基酸序列多重比对

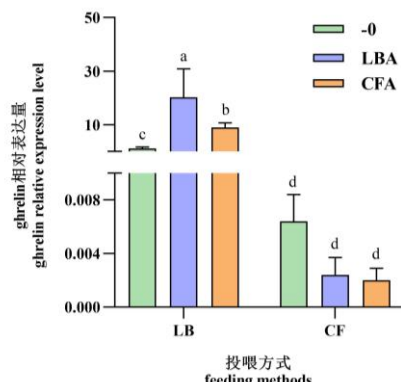


免疫组化

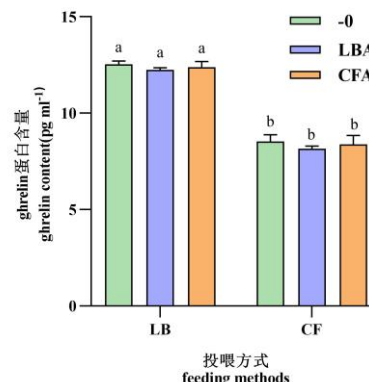


箭头指向为阳性细胞, a内小图为虚线范围所示内容。a: 免疫阳性细胞(箭头); b: 对照组; GG: 胃腺; GP: 胃小凹; MA: 粘膜层; SM: 黏膜下层。

诱食试验

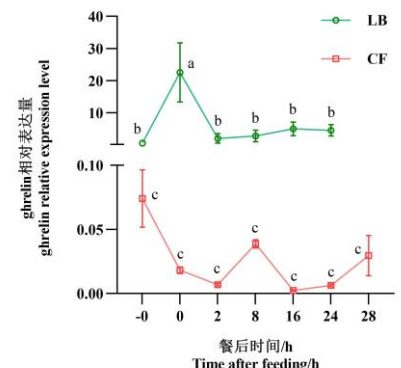


不同字母表示差异显著(P<0.05)。LB: 活饵组; CF: 饲料组; LBA: 活饵诱食; CFA: 饲料诱食。

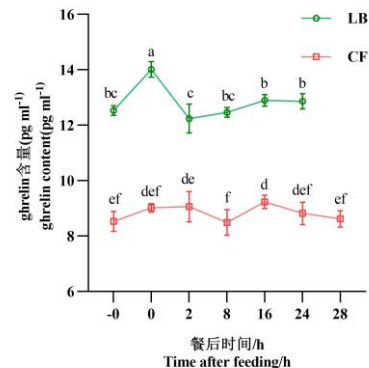


不同字母表示差异显著(P<0.05)。LB: 活饵组; CF: 饲料组; LBA: 活饵诱食; CFA: 饲料诱食。

进食试验



不同字母表示差异显著(P<0.05)。LB: 活饵组; CF: 饲料组。



不同字母表示差异显著(P<0.05)。LB: 活饵组; CF: 饲料组。

结论 Discussion

本研究首次分析了鳊preproghrelin基因DNA序列, 属于II型。Ghrelin细胞位于胃腺中。活饵组诱食时ghrelin表达显著上升, 进食前、后表现出先上升后下降的趋势; 饲料组ghrelin含量显著降低, 诱食、进食前后表达变化不明显。鳊胃ghrelin参与摄食调节, 而饲料投喂后ghrelin摄食调节作用减弱。