

网络出版时间:2013-06-20 16:17

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20130620.1617.025.html>

黄颡鱼神经肽 Y 基因(NPY)cDNA 全序列的 克隆及其表达特征分析

曹磊^{1,2}, 梁宏伟², 李忠^{1,2}, 王晓阳^{1,2}, 丁为群^{2,3}, 邹桂伟^{1,2}

(1 华中农业大学 水产学院, 湖北 武汉 430070; 2 中国水产科学研究院 长江水产研究所, 湖北 武汉 430223;

3 昆明理工大学 生命科学与技术学院, 云南 昆明 650500)

[摘要] **【目的】**克隆黄颡鱼神经肽 Y 基因(NPY), 研究其不同组织及在饥饿情况下脑组织中的表达情况, 探讨其在黄颡鱼摄食活动中的作用。**【方法】**利用 RT-PCR 和 RACE 技术, 克隆黄颡鱼 NPY 基因的 cDNA 序列全长, 对其编码氨基酸进行生物信息学分析; 利用半定量 PCR 和实时荧光定量 PCR 技术, 对 NPY 基因在黄颡鱼成体不同组织(脑、心脏、肝脏、肾脏、脾脏、胃、肌肉、鳃、性腺)中的表达情况进行研究, 并检测饥饿不同时间(0, 24, 48, 72, 96, 120, 144 和 168 h)以及饥饿 168 h 重新投饵 1, 3 和 5 h 后黄颡鱼脑组织中 NPY 表达水平的变化。**【结果】**黄颡鱼 NPY 基因 cDNA 序列全长 772 bp, 开放阅读框 282 bp, 编码 93 个氨基酸, 其与瓦氏黄颡鱼同源性最高(97%), 与斑点叉尾鲷、建鲤、胭脂鱼、中华倒刺鲃的同源性分别为 87%, 72%, 72% 和 70%。NPY 基因在黄颡鱼成体组织脑、脾脏、肝脏、鳃、性腺中都有表达, 而在心脏、肌肉、胃、肾脏中不表达, 在脑中的表达量极显著高于其他组织($P < 0.01$); 在饥饿处理 24~144 h 时, 随饥饿时间的增加, 黄颡鱼脑组织中 NPY 表达量升高, 但在饥饿 168 h 重新投饵 3 h 后, NPY 表达量即可下降到正常水平。**【结论】**NPY 基因在黄颡鱼脑中大量表达, 随着饥饿时间的增加脑组织中 NPY mRNA 表达量上升, 重新投饵后其表达量很快下降到正常水平, 表明 NPY 基因在黄颡鱼摄食活动中发挥着重要作用。

[关键词] 黄颡鱼; NPY 基因; 饥饿; 基因表达

[中图分类号] S965.199; Q786

[文献标志码] A

[文章编号] 1671-9387(2013)07-0001-07

Cloning and expression analysis of NPY gene in yellow catfish, *Pelteobagrus fulvidraco*

CAO Lei^{1,2}, LIANG Hong-wei², LI Zhong^{1,2}, WANG Xiao-yang^{1,2},
DING Wei-qun^{2,3}, ZOU Gui-wei^{1,2}

(1 College of Fisheries, Huazhong Agricultural University, Wuhan, Hubei 430070, China;

2 Yangtze River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fisheries Science, Wuhan, Hubei 430223, China;

3 College of Life Science and Technology, Kunming University of Science and Technology, Kunming, Yunnan 650500, China)

Abstract: **【Objective】**The yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*) NPY gene was cloned to analyze its expression pattern in adult tissues and the change of expression in brain tissue in starvation, and to investigate its physiological function in food intake. **【Method】**RT-PCR and RACE method were used to clone NPY gene. Bioinformatic analysis of NPY amino acid was conducted. The expression in adult tissues

[收稿日期] 2012-09-24

[基金项目] 国家高技术研究发展规划(“863”计划)项目(2011AA100401); 国家水产种质资源平台项目; 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项

[作者简介] 曹磊(1986—), 男, 河北保定人, 在读硕士, 主要从事鱼类遗传育种研究。E-mail: caolei5280@163.com

[通信作者] 邹桂伟(1963—), 男, 安徽庐江人, 研究员, 主要从事鱼类遗传育种研究。E-mail: zougw@yfi.ac.cn

(brain, heart, liver, kidney, spleen, stomach, muscle, gill, and gonad) and the changes of expression in brain tissue at different starvation times (0, 24, 48, 72, 96, 120, 144, and 168 h) and at different times after re-feeding (1, 3 and 5 h) were determined using Semi-quantitative PCR and real-time quantitative PCR. 【Result】 The full-length of cDNA was 772 bp. The open reading frame was consisted of 282 bp encoding 93 amino acids. Alignment analysis showed that the amino acid sequence of *Pelteobagrus fulvidraco* NPY gene was 97%, 87%, 72%, 72% and 70% identical to that of darkbarbel catfish (*Pelteobagrus vachelli*), channel catfish (*Ictalurus punctatus*), jian carp (*Cyprinus carpio jian*), Chinese sucker (*Myxocyprinus asiaticus*) and barbodes sinensis (*Spinibarbus sinensis*), respectively. The NPY gene expression was detected in brain, spleen, liver, gill and gonad, rather than heart, muscle, stomach and kidney. The expression level in brain was much higher than in other tissues ($P < 0.01$), and it increased as the increase of starvation time and returned to normal level after re-feeding. 【Conclusion】 The NPY gene is abundantly expressed in brain and plays an important role in food intake in yellow catfish.

Key words: *Pelteobagrus fulvidraco*; NPY gene; deprivation; gene expression analysis

神经肽 Y, 又称神经肽酪氨酸 (Neuropeptide tyrosine, NPY), 由瑞典科学家 Tatemoto 等^[1]于 1982 年从猪脑中首次分离出来, 是由 36 个氨基酸组成的活性单链多肽, 属于胰多肽家族^[2]。NPY 广泛分布于脊椎动物的中枢及外周神经系统, 也存在于其他的组织、器官和腺体中, 在脑中含量尤其丰富^[3]。在哺乳动物中, NPY 具有促进动物摄食、调节体温、影响激素分泌、调节心血管功能、改变生物节律及学习记忆等多种功能^[4-6]。在鱼类中, NPY 主要有促进摄食的作用。Volkoff 等^[7]发现, 给金鱼注射 NPY 会使金鱼摄食量增加; Peterson 等^[8]发现, 在斑点叉尾鲷摄食前其脑组织 NPY mRNA 表达量增加, 脑组织中 NPY mRNA 表达量与饥饿时间呈正相关; 在大西洋鳕鱼上, 随着饥饿时间的增加其下丘脑 NPY mRNA 表达量也相应增加, 到进食时 NPY mRNA 含量达到最大^[9]。另外, NPY 还参与性行为调控, 它作用于下丘脑-垂体-性腺轴, 影响鱼类生长激素 (GH) 和促性腺激素 (GtH) 的释放^[10]。

黄颡鱼 (*Pelteobagrus fulvidraco*) 属于鲇形目 (Siluriformes)、鲿科 (Bagridae)、黄颡鱼属 (*Pelteobagrus*)。在自然环境中黄颡鱼主要栖息于江河、湖泊的中下层, 白天极少活动, 夜晚外出觅食, 以水生昆虫、小鱼、小虾为食。黄颡鱼的生长速度较慢, 且雌雄个体的生长速度有明显的差异, 同龄的雄鱼生长速度较雌鱼快 30% 以上^[11]。NPY 作为一种重要的摄食调控因子, 其在黄颡鱼摄食中的作用尚不清楚, 为了解决这一问题, 首先要了解 NPY 在黄颡鱼摄食活动中的变化情况。本研究利用 RT-PCR 和 RACE 技术, 从黄颡鱼脑中克隆 NPY 基因的

cDNA, 检测其在黄颡鱼各组织中的表达情况, 并分析其在饥饿状态黄颡鱼脑中的表达情况, 从分子水平探讨 NPY 对黄颡鱼摄食的促进作用, 以期为进一步研究 NPY 对黄颡鱼生长的调控机理提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 材料

黄颡鱼取自中国水产科学院长江水产研究所窑湾试验场, 选取规格整齐、健康、无损伤的黄颡鱼 60 尾, 体质量为 (75 ± 5) g/尾, 在养殖车间暂养 2 周, 备用。成鱼取脑、心脏、肝脏、肾脏、脾脏、胃、肌肉、鳃和性腺组织, $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存备用。饥饿试验组共设置 11 个组, 每组 5 尾鱼, 对试验鱼进行饥饿处理, 分别取饥饿处理 0, 24, 48, 72, 96, 120, 144 和 168 h 试验鱼的脑; 然后对饥饿 168 h 后的试验鱼投喂饲料, 分别取重新投饵后 1, 3 和 5 h 试验鱼的脑, 将 11 份脑样品均于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

1.2 引物设计

根据 GenBank 已发表的鲇形目鱼类 NPY 基因 cDNA 序列的保守区, 设计引物 P1F/P1R、P2F/P2R, 用于扩增黄颡鱼 NPY 基因中间片段; 根据测序获得的黄颡鱼 NPY 基因中间片段, 设计引物 P3、P4 和 P5、P6, 其中 P3、P4 用于扩增 NPY 基因的 5'RACE, P5、P6 用于扩增 NPY 基因的 3'RACE。P7F/P7R 为定量表达的基因特异性引物; β -actin F/ β -actin R 为定量表达的内参引物。以上引物均采用 Primer5.0 设计, 由武汉擎科生物技术有限公司合成。设计的引物序列见表 1。

表 1 黄颡鱼 NPY 基因扩增试验所用引物

Table 1 Primers used in the NPY gene PCR experiment of *P. fulvidraco*

引物用途 Application of primers	编号 No.	引物序列(5'→3') Sequence (5'→3')	退火温度/℃ <i>T_m</i>
中间片段 Primers for partial fragment	P1F	GCTTGTGGCGTGTTCGTGC	58
	P1R	TGACCTTTTCCCATACCTCTGC	
	P2F	GAGGCAGAGGTATGGGAAAAGG	58
	P2R	CATCACCACATCAAAGGGTCATC	
5'RACE	P3	CATCACCACATCAAAGGGTCATCAT	63
	P4	CCTTTTCCCATACCTCTGCCTCGTG	
3'RACE	P5	GGAGAGGACGCACCTGTTGAAGAAC	63
	P6	CCCAGACATCCTGTTTGAGAGAC	
NPY 的 PCR Real time PCR for NPY	P7F	ATCATTAGCAAGGCATCAGACT	59
	P7R	GTGCAGCTTCAGTTCATACAAC	
β -actin 的 Real time PCR Real time PCR for β -actin	β -actin F	TCCCTGTATGCCTCTGGTCGT	59
	β -actin R	AAGCTGTAGCCTCTCTCGGTC	

1.3 黄颡鱼总 RNA 的提取和 cDNA 第 1 链的合成

称取上述所取黄颡鱼组织约 100 mg,用 Trizol Reagent(Invitrogen)并根据其使用说明提取黄颡鱼总 RNA。使用紫外分光光度计测定 RNA 浓度,并根据 OD₂₆₀/OD₂₈₀ 值判断 RNA 的质量;以总 RNA 为模板,利用 RNA PCR Kit(AMV)Ver3.0(TaKa-Ra)并按照试剂盒说明书合成 cDNA 第 1 链。

1.4 黄颡鱼 NPY 基因全长的扩增与序列分析

以 cDNA 第 1 链为模板,P1F/P1R 和 P2F/P2R 为引物进行 PCR 扩增。PCR 反应体系为 25 μ L,其中 10 $\times$ Buffer 2.5 μ L,上、下游引物各 1 μ L(10 μ mol/L),dNTPs(10 mmol/L)0.5 μ L,Taq 酶 0.3 μ L,模板为 1 μ L,以 ddH₂O 补足体积。PCR 反应程序为:94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min;94 $^{\circ}$ C 变性 30 s,58 $^{\circ}$ C 退火 30 s,72 $^{\circ}$ C 延伸 45 s,36 个循环;72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min。将 PCR 产物电泳、回收、纯化后,连接到 pMD-18T Vector,转化到大肠杆菌 DH5 α 中,经氨苄筛选,对重组质粒进行扩大培养,提取质粒 DNA 进行检测,送武汉擎科生物技术有限公司测序。

根据获得的黄颡鱼 NPY 基因中间片段序列,设计 5'RACE 和 3'RACE 基因特异性引物 P3、P4 和 P5、P6,参考 SMART erTM RACE cDNA Amplification Kit(Clontech,美国)说明书进行 cDNA 末端快速扩增,凝胶回收、克隆及测序方法同上。利用 DNASTAR 软件包对所得序列进行拼接及分析,并在 GenBank 上进行同源性检索,利用 NCBI 的在线工具进行开放阅读框、分子质量、等电点、疏/亲水性预测。

1.5 黄颡鱼 NPY mRNA 表达的半定量 PCR 检测

利用引物 P7F/P7R 和内参引物 β -actin F/ β -actin R 检测 NPY 基因在黄颡鱼各组织中的分布。PCR 反应体系为 15 μ L,其中 10 $\times$ Buffer 1.5 μ L,上、下游引物(10 μ mol/L)各 0.5 μ L,dNTPs(10 mmol/L)0.3 μ L,Taq 酶 0.2 μ L,模板为 0.8 μ L,以 ddH₂O 补足体积。PCR 反应程序为:94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min;94 $^{\circ}$ C 变性 30 s,59 $^{\circ}$ C 退火 30 s,72 $^{\circ}$ C 延伸 45 s,36 个循环;最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min。对 PCR 产物进行 10 g/L 琼脂糖凝胶电泳,并拍照保存。

1.6 实时荧光定量 PCR

利用引物 P7F/P7R 和内参引物 β -actin F/ β -actin R 检测 NPY 基因在黄颡鱼各组织,以及在饥饿处理个体脑组织中的表达情况。实时荧光定量 PCR 的反应体系为 20 μ L,其中 2 $\times$ SYBR Real-time PCR Premixture 10 μ L,上、下游引物(10 μ mol/L)各 1 μ L,cDNA 模板 1 μ L,加超纯水至 20 μ L。PCR 的反应条件为:95 $^{\circ}$ C 10 min;95 $^{\circ}$ C 15 s,59 $^{\circ}$ C 15 s,72 $^{\circ}$ C 20 s,40 个循环。所有检测样品均进行 3 个重复。

2 结果与分析

2.1 黄颡鱼总 RNA 的提取

用 Trizol Reagent(Invitrogen),根据使用说明提取总 RNA,使用紫外分光光度计测定 RNA 浓度,其 OD₂₆₀/OD₂₈₀ 值为 1.93;10 g/L 琼脂糖凝胶电泳检测结果显示,提取的 RNA 质量较高(图 1),可用于后续试验。

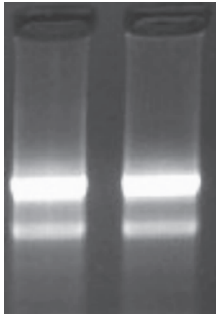


图 1 黄颡鱼总 RNA 的完整性检测

Fig. 1 Integrate verification of yellow catfish total RNA

2.2 黄颡鱼 NPY 基因 cDNA 序列分析

克隆获得的黄颡鱼 NPY 基因 cDNA 全长 (GenBank 登陆号为 JX441993)772 bp,其中 5'端非翻译区 96 bp,3'端非翻译区 394 bp,开放阅读框为 282 bp,编码 93 个氨基酸,3'端非翻译区有真核细胞加尾信号(AATAAA)和 poly(A)尾巴。

2.3 黄颡鱼 NPY 蛋白的生物信息学分析

利用 ExPasy 在线软件(<http://www.expasy.ch/cgi-bin/protparam>)分析 NPY 蛋白的生物信息,表明黄颡鱼 NPY 基因共编码 93 个氨基酸,NPY 蛋白的相对分子质量为 10 490. 0,分子式为 $C_{462}H_{722}N_{126}O_{137}S_8$,理论等电点 (pI)为 5. 74;NPY 蛋白在水溶液中于 280 nm 处的摩尔消光系数为 20 190 mol/(L · cm),不稳定系数为 56. 91,说明 NPY 蛋白为不稳定蛋白,其疏水性指数为-0. 265;若其成熟肽 N 端为丙氨酸,NPY 基因在酵母和大肠杆菌中表达的半衰期分别大于 20 和 10 h。

利用 ProtScale(<http://www.expasy.org/tools/protscale.html>)进行亲/疏水性分析,结果见图 2。

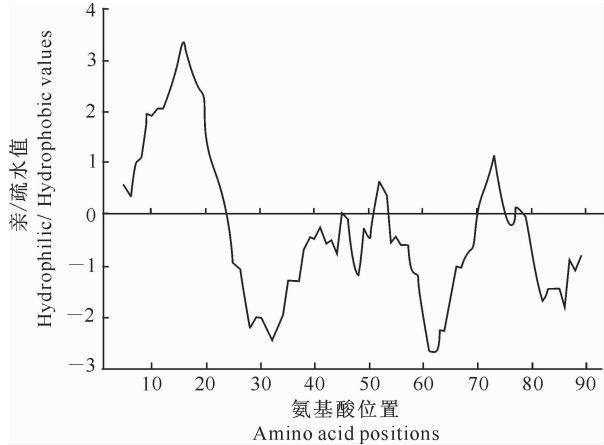


图 2 黄颡鱼 NPY 蛋白的亲疏水性分析

Fig. 2 Predicted hydrophobicity and hydrophilicity of deduced amino acid sequence of NPY protein

由图 2 可知,NPY 蛋白存在 1 个高疏水性值峰 (Score>2),分布在 11~19 位氨基酸处,属于高疏水性域;在第 16 位氨基酸的疏水性最大,疏水值为 3. 233;NPY 蛋白还存在 2 个低亲水性值峰 (Score<-2),分布在 28~33 和 60~64 位氨基酸处,在第 63、64 位氨基酸的亲水性最小,亲水值为-2. 678。NPY 蛋白是一种亲水性很强的蛋白 (Score<0),这些低分值区域属于高亲水性域。

2.4 黄颡鱼 NPY 氨基酸序列的同源性分析

用 NCBI 的 Protein Blast 对黄颡鱼 NPY 基因所推导的多肽进行同源性比对,结果(图 3)发现,其与瓦氏黄颡鱼(*Pelteobagrus vachellii*, AEM75018) NPY 氨基酸序列的同源性最高,为 97%;与斑点叉尾鲷 (*Ictalurus punctatus*, NP-001187016)、建鲤 (*Cyprinus carpio jian*, AFM74365)、胭脂鱼 (*Myxocyprinus asiaticus*, ABQ53144)、中华倒刺鲃 (*Spinibarbus sinensis*, ABE73783)的同源性分别为 87%,72%,72% 和 70%;与哺乳动物小鼠 (*Mus musculus*, AAG01330)的同源性为 59%。这说明该蛋白在不同物种之间的同源性较高。

基于 NPY 蛋白的氨基酸序列,运用 MEGA5. 0 软件构建了 14 个不同物种的 NJ 系统进化树,结果见图 4。由图 4 可以看出,14 个不同物种聚为 3 个大类,其中黄颡鱼和同属于黄颡鱼属的瓦氏黄颡鱼聚为 1 支,然后与叉尾鲷属的斑点叉尾鲷聚为 1 支,这 3 种鱼同属鲴形目;鲤形目的建鲤、胭脂鱼、草鱼、岩原鲤聚为 1 支,然后鲴形目和鲤形目鱼类聚为 1 类;大西洋鲑鱼、舌齿鲈和加州鲈聚为 1 类;小鼠、家牛、绿猴和原鸡聚为 1 类。进化树分析结果表明,脊椎动物的 NPY 氨基酸序列同源性与其分类地位基本吻合。

2.5 NPY 基因在黄颡鱼各组织中的表达

半定量 PCR 检测得到的 NPY 基因在黄颡鱼 9 个组织中的表达情况如图 5 所示。由图 5 可知, NPY 基因在黄颡鱼脑、鳃、肝脏、脾脏、性腺等组织均有表达,而在肌肉、胃、肾脏、心脏中不表达。对 5 个有表达的组织进行荧光定量 PCR 分析,结果(图 6)表明,以鳃中的 NPY mRNA 表达量为基准,NPY mRNA 在脑中的表达量最高,极显著高于肝脏、脾脏、鳃和性腺中的表达量 ($P<0. 01$),且鳃、肝脏、肾脏、性腺中的 NPY mRNA 表达量均较低。

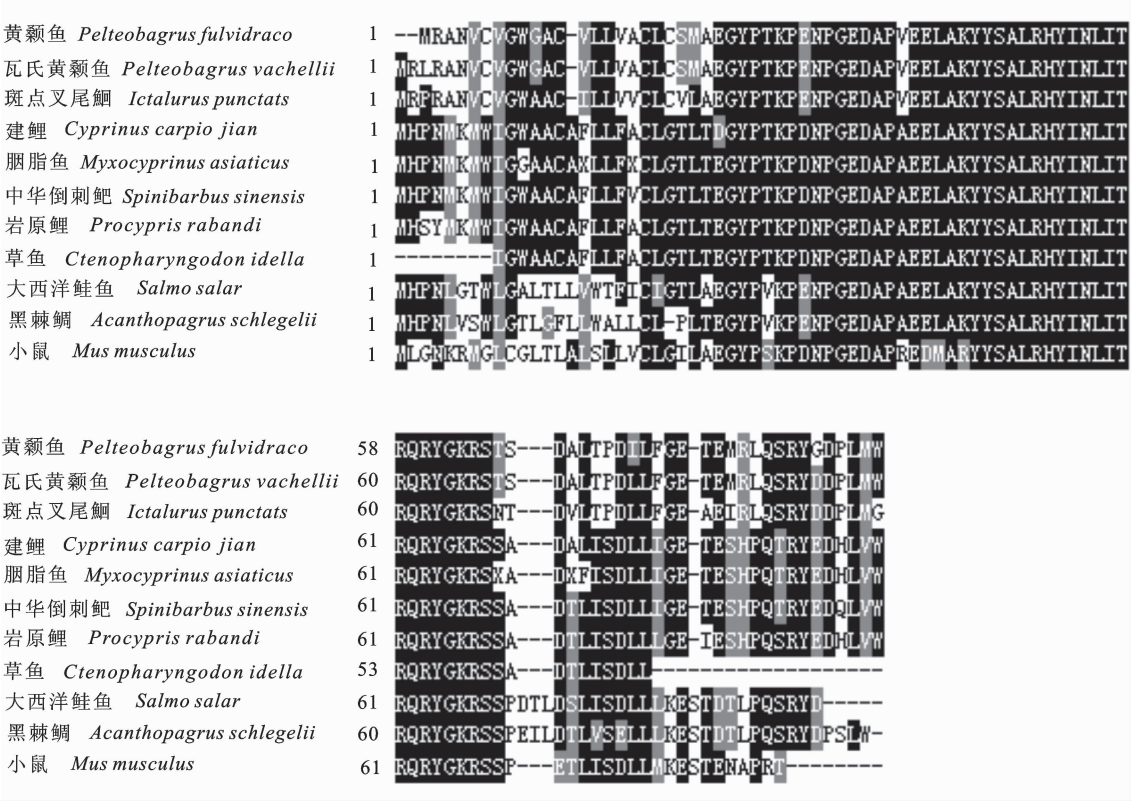


图 3 黄颡鱼与其他物种 NPY 氨基酸序列的比较

阴影表示氨基酸相同;“—”表示氨基酸缺失

Fig. 3 Comparison of the amino acid sequence of NPY in yellow catfish with other species
Shadow region indicates identical amino acid;“—”indicates amino acid deletion.

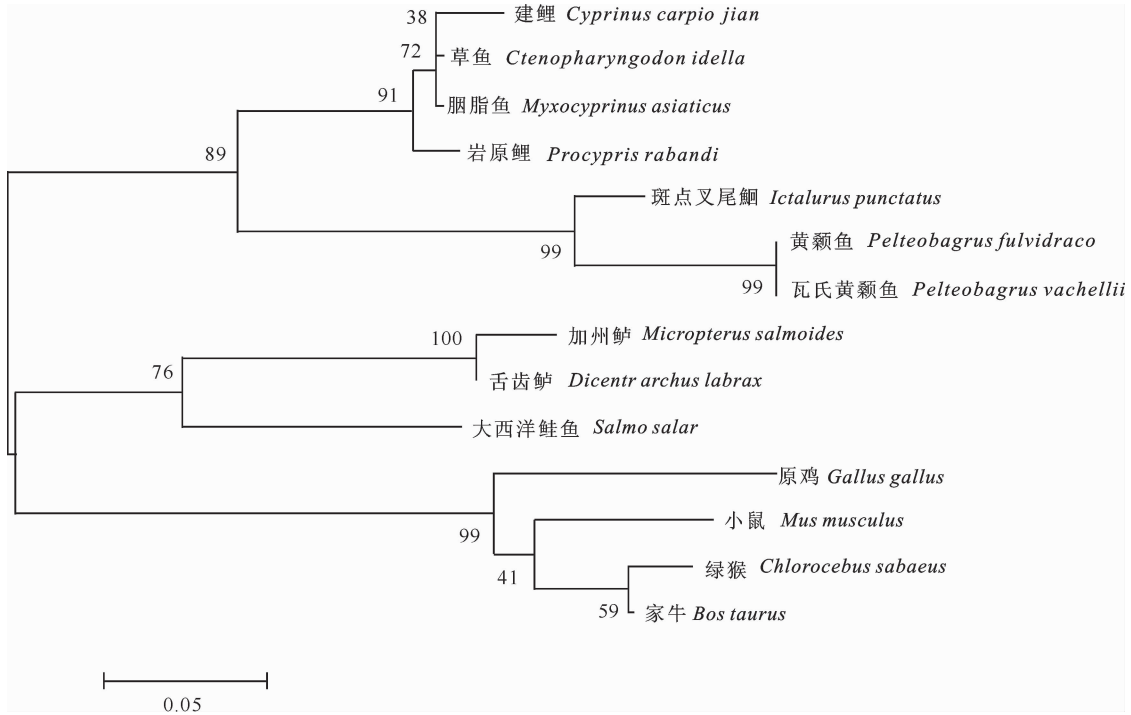


图 4 基于 NPY 蛋白氨基酸序列构建的黄颡鱼与其他 13 个物种的 NJ 系统树

Fig. 4 NPY based NJ phylogenetic tree of yellow catfish and other 13 species by amino acid sequences

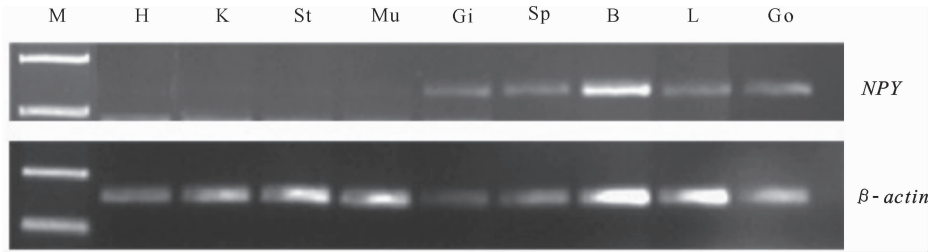


图 5 *NPY* mRNA 在黄颡鱼成体组织中的分布

M. Marker; H. 心脏; K. 肾脏; St. 胃; Mu. 肌肉; Gi. 鳃; Sp. 脾脏; B. 脑; L. 肝脏; Go. 性腺

Fig. 5 Distribution pattern *NPY* mRNA in tissues of yellow catfish

M. Marker; H. Heart; K. Kidney; St. Stomach; Mu. Muscle; Gi. Gill; Sp. Spleen; B. Brain; L. Liver; Go. Gonad

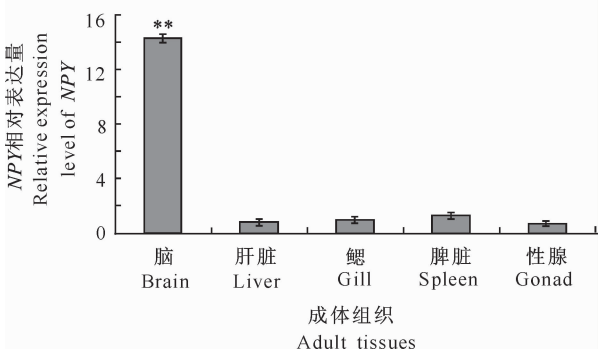


图 6 *NPY* mRNA 在黄颡鱼成体组织中的表达

以鳃作为对照器官, * * 表示差异极显著($P<0.01$)

Fig. 6 The expression pattern of *NPY* mRNA in tissues of yellow catfish

The expression level of *NPY* from gill was defined as calibrator,

* * indicates significant difference($P<0.01$)

2.6 饥饿对黄颡鱼脑组织 *NPY* 表达的影响

由图 7 可知,黄颡鱼脑组织中的 *NPY* mRNA 表达量在饥饿 24~144 h 呈上升趋势,在饥饿 168 h 后对黄颡鱼进行投饵喂食后,其脑组织中的 *NPY* mRNA 表达量又随之急剧下降。图 7 显示,在饥饿 24,48 和 72 h 的黄颡鱼脑组织中,*NPY* mRNA 表达量的变化差异不显著,饥饿 96,120 h 时脑组织中的 *NPY* mRNA 表达量较饥饿 24~72 h 显著升高 ($P<0.05$),饥饿 144,168 h 时脑组织的 *NPY* mRNA 表达量较 24~72 h 极显著上升 ($P<0.01$);在饥饿 168 h 后对黄颡鱼进行投饵,在投饵喂食后 1, 3,5 h,黄颡鱼脑组织中的 *NPY* mRNA 表达量于恢复投饵 3 h 时即可下降到正常水平。上述研究结果表明,饥饿可导致黄颡鱼脑组织中的 *NPY* 表达量上升,重新投饵后,脑组织中的 *NPY* 表达量可以迅速下降到正常水平。

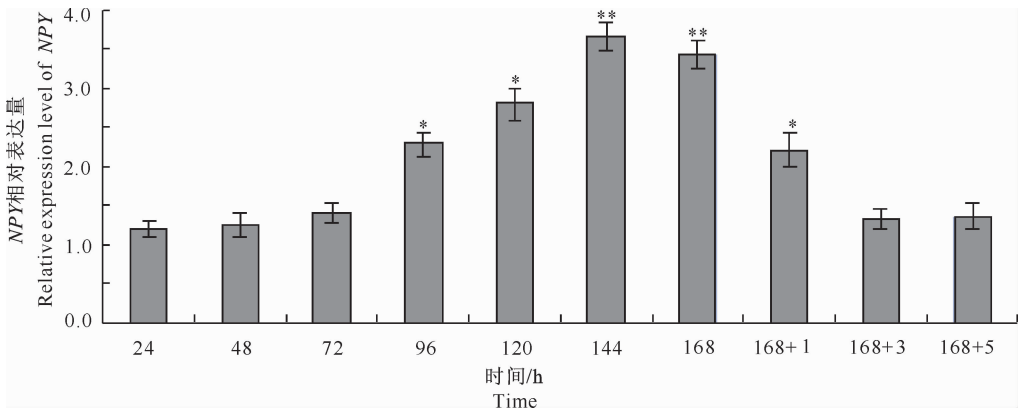


图 7 饥饿及饥饿 168 h 后投饵对黄颡鱼脑组织中 *NPY* 表达量的影响

24,48,72,96,120,144 和 168 表示饥饿处理时间,168+1,168+3,168+5 表示在饥饿 168 h 后恢复投饵 1,3,5 h;

“*”、“**”分别表示与饥饿 24~72 h 及投饵后 3~5 h 相比差异达显著($P<0.05$)和极显著($P<0.01$)水平

Fig. 7 Effects of starvation and re-feeding after starvation on *NPY* expression levels in brain of yellow catfish

24,48,72,96,120,144,168 h represent the food deprivation time;168+1,168+3,168+5 represent the time after re-feeding 1,3,5 h;

“*”和“**” indicate differences are significantly ($P<0.05$) or extremely significantly ($P<0.01$) compared with starvation after 24—72 h and re-feeding 3—5 h, respectively

3 讨论

本研究利用 RT-PCR 和 Real-time PCR 技术,分析了 *NPY* mRNA 在黄颡鱼雌雄成体 9 个组织中的表达情况,结果表明,*NPY* mRNA 在黄颡鱼成体脑、鳃、肝脏、脾脏、性腺组织中都有表达,而在肌肉、胃、肾脏、心脏中不表达,且在脑组织中的表达量极显著高于其他组织($P < 0.01$)。已有的研究结果也表明,*NPY* 基因主要在鱼类的神经组织中表达^[12-14],其 mRNA 主要在鱼的前脑、下丘脑等脑区表达,进而合成和分泌 *NPY*,其他外周组织是 *NPY* 作用的靶器官,作用模式是典型的内分泌激素作用模式。本试验结果表明,黄颡鱼 *NPY* 基因在成鱼脑组织中大量表达,这与对斜带石斑鱼^[15]、大西洋鲑鱼^[16]的有关研究结果基本一致。*NPY* mRNA 在其他鱼类不同组织中的表达结果不尽相同,李振华^[17]在大鲮的脑、鳃、脾脏、体肾、肝脏、肠中检测到 *NPY* mRNA 表达,而在心脏、胃、肌肉中未检测到,且其在脑组织中的表达量高于其他组织;Macdonald 等^[18-19]发现,*NPY* mRNA 在美洲拟鲈、冬鲱脑组织中大量表达,在肠道、肝脏、肾脏、性腺、肌肉、心脏和胃中也有表达;Leonard 等^[20]发现,*NPY* mRNA 在斑点叉尾鲴的脑组织和卵巢中都有表达。*NPY* mRNA 在不同鱼的不同组织中的表达差异可能与鱼的种类有关,但是 *NPY* mRNA 均在脑组织中大量表达,这与本研究结果相一致。

NPY 是一种内源性的促食欲因子,在机体的摄食活动中发挥着重要作用,下丘脑是机体食欲调节中枢,通过复杂的食欲调节网络,接受和传递各种调节因子的信号,对食欲进行综合调节。Narnaware 等^[21]发现,经过 72 h 禁食后,金鱼下丘脑组织中的 *NPY* mRNA 表达量显著增高,在禁食 72 h 后对金鱼投喂饵料,1 h 后下丘脑组织的 *NPY* mRNA 下降到正常水平。Peterson 等^[8]研究发现,在摄食前 0~4 h,斑点叉尾鲴脑组织中的 *NPY* mRNA 表达量增加,脑组织中的 *NPY* mRNA 表达量与饥饿时间呈正相关;给予斑点叉尾鲴食物 0~4 h 后,其脑组织中的 *NPY* mRNA 表达量呈下降趋势。Campos 等^[22]在研究巴西牙鲆 *NPY* 基因时发现,在牙鲆进食时间内,进食牙鲆下丘脑的 *NPY* mRNA 表达量急剧下降,而未进食牙鲆的 *NPY* mRNA 表达量基本不变。大西洋鲑鱼脑组织中的 *NPY* mRNA 表达量也在进食后呈下降趋势^[9]。饥饿使鲫、银大麻哈鱼脑室中的 *NPY* mRNA 表达量增加,重新投

饵后将产生相反的影响^[23-24]。本研究对不同饥饿处理黄颡鱼脑组织中 *NPY* mRNA 表达情况的分析发现,随着饥饿时间的延长,其脑组织中的 *NPY* mRNA 表达量增高,在对禁食 168 h 后的黄颡鱼重新投饵后,其脑组织中的 *NPY* mRNA 表达量急剧下降,在投饵后 3 h 即下降到正常水平,这表明 *NPY* mRNA 基因参与了黄颡鱼的摄食调节,这为今后进一步研究黄颡鱼的生长调控机理奠定了基础。

[参考文献]

- [1] Tatenoto K. Isolation and characterization of Peptide YY(PYY), a candidate gut hormone that inhibits pancreatic exocrine secretion [J]. *Acad Sci*, 1982, 79: 2514-2518.
- [2] Larhammar D, Fredriksson R, Larson E T, et al. Phylogeny of *NPY*-family peptides and their receptors [J]. *Handbook of Experimental Pharmacology*, 2004, 162: 75-100.
- [3] Heilig M, Widerlov E. Neuropeptide Y: An overview of central distribution, functional aspects, and possible involvement in neuropsychiatric illnesses [J]. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 1990, 82(2): 95-114.
- [4] Dumont Y, Martel J C, Fournier A, et al. Neuropeptide Y and Neuropeptide Y receptor subtypes in brain and peripheral tissues [J]. *Prog Neurobiol*, 1992, 38: 125-167.
- [5] Haefliger J A, Waeber B, Grouzmann E, et al. Cellular localization, expression and regulation of neuropeptide Y in kidneys of hypertensive rats [J]. *Regul Pept*, 1999, 82: 35-43.
- [6] Malmstrom R E. Existence of both neuropeptide Y, Y1 and Y2 receptors in pig spleen Evidence using subtype-selective antagonists *in vivo* [J]. *Life Sci*, 2001, 69: 1999-2005.
- [7] Volkoff H, Peter R E. Interaction between orexin A, *NPY* and galanin in the control of food intake of the goldfish, *Carassius auratus* [J]. *Regulatory Peptides*, 2001, 101: 59-72.
- [8] Peterson B C, Waldbieser G C, Riley L G, et al. Pre- and postprandial changes in orexigenic and anorexigenic factors in channel catfish (*Ictalurus punctatus*) [J]. *General and Comparative Endocrinology*, 2012, 176: 231-239.
- [9] Kehoe A S, Volkoff H. Cloning and characterization of neuropeptide Y (*NPY*) and cocaine and amphetamine regulated transcript (CART) in Atlantic cod (*Gadus morhua*) [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 2007, 146: 451-461.
- [10] Peng C, Huang Y P, Peter R E. Neuropeptide Y stimulates growth hormone and gonadotropin release from the goldfish pituitary *in vitro* [J]. *Neuroendocrinology*, 1990, 52: 28-34.
- [11] 李秀启, 陈毅锋, 李 玺. 抚仙湖外来黄颡鱼种群的年龄和生长特征 [J]. *动物学报*, 2006, 52(2): 263-271.
Li X Q, Chen Y F, Li Q. Age and growth characters of an alien catfish *Pelteobagrus fulvidraco* in Lake Fuxian, China [J]. *Acta Zoologica Sinica*, 2006, 52(2): 263-271. (in Chinese)

(下转第 14 页)